



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ**

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

ENXERTO AUTÓGENO DE DENTINA PARA REGENERAÇÃO ÓSSEA

Trabalho submetido por

Juliano Manuel Vieira do Sacramento

Para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

setembro 2017



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ**

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

ENXERTO AUTÓGENO DE DENTINA PARA REGENERAÇÃO ÓSSEA

Trabalho submetido por

Juliano Manuel Vieira do Sacramento

Para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho Orientado por

Mestre Alexandre Miguel Pereira Oliveira Santos

setembro 2017

Esta monografia incide sobre a regeneração óssea com recurso a matriz dentinária com base na literatura mais recente.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Alexandre Santos, orientador desta tese, que contribuiu com a sua dedicação e esforço para a realização deste trabalho. Quero especialmente destacar o seu forte empenho na revisão do conteúdo desta tese, sua atenção ao pormenor, exigência e detalhe. Assim como reconhecer o seu verdadeiro gosto pelo ensino, sincero e inspirador.

À minha mãe, família e amigos, e a todos aqueles que me acompanharam e inspiraram até aqui e continuarão a fazer parte da minha vida para sempre.

RESUMO

A perda óssea é um problema relevante na Medicina Dentária. Tomando-o em consideração, desenvolveram-se materiais de enxerto para regeneração óssea. Hoje vários tipos de enxerto são frequentemente utilizados em todo o mundo e o enxerto ósseo é o segundo tipo de transplante mais frequente, logo após o transplante sanguíneo e ao mesmo tempo as extrações dentárias o procedimento mais realizado em Medicina Dentária.

O enxerto autógeno, com osso proveniente do mesmo indivíduo, é classificado como padrão de ouro. Além deste, alógeno, xenógeno e materiais aloplásticos são utilizados opcionalmente. No geral o enxerto de osso autógeno tem a desvantagem de não estar disponível em grandes quantidades e de ser necessário um segundo processo cirúrgico para recolha do material. O alógeno e o xenógeno a desvantagem de poderem induzir rejeição e transmissão de doenças entre indivíduos da mesma espécie e entre espécies diferentes respetivamente. Enquanto os materiais aloplásticos não induzem qualquer efeito osteogénico.

Em relação ao enxerto autógeno de dentina, existe pouca informação, nomeadamente em relação à forma e ao tamanho das partículas do enxerto. Porém estes detêm capacidade osteoindutora, e osteocondutora, sem qualquer problema de imunidade ou transmissão de doenças, e a recolha é realizada a nível oral, podendo ser realizada recolha e enxerto no mesmo tempo clínico, sem descartar um dente, rico em elementos com capacidade de regenerar osso alveolar. E ultrapassando todas as desvantagens dos restantes materiais anteriormente referidos.

A presente monografia recolhe as conclusões da literatura existente sobre o tema e expõe o enxerto autógeno de dentina como uma opção relevante, num momento em que ainda são poucos os clínicos que recorrem a dentina para enxerto ósseo. Pensa-se que a dentina no futuro será vista como um material eficaz face aos resultados verificados na literatura até ao momento.

Palavras-chave: Enxerto autógeno; Dentina; Biomateriais; Regeneração

ABSTRACT

Bone loss have been a question in Dental Sciences. To surpass this need, were developed different graft materials to bone regeneration. Nowadays several bone graft materials are often used all over the world and the bone graft it is the second most common type of transplant just after blood.

There are four general types of bone graft materials:

The autogenous bone graft, with the source of material provided by the same patient, it is the gold standart. Besides this one, alogenous, xenogenous and aloplastic materials are taken as optional. In general the autogenous graft material have as drawback the limited source quantity, and needs a secound surgery to be collected. The alogenous and xenogenous, both have the immunitary reaction and diseases transmittion as drawback, between distinct elements of the same species or distinct elements from different specie respectivly. And also, the alloplastic materials does not induce any osteogenic effect.

Regarding to dentin bone graft, the particle amount, shape and size still requiring more investigation to achieve and standartize the ideal values of it. However, they have the osteoindutive and osteocondutive capacities, and should be considered as well, showing no immunitary reaction or desease transmittion risks, and it is an oral source of material, that can work in the same surgical setting without discarting away a tooth, rich in minerals and proteins with regeneration abilities.

The present review, collect the conclusions in the existing literature about the subject and expose the dentin bone graft as a possible and very interesting option, meanwhile still only just a few clinicians using it in their practice.

It is believed the dentin tends to be considered in the future as a high quality alternative material compared to the results obtained up to the present.

Keywords:

Autogenous graft; Dentin; Biomaterial; Regeneration

ÍNDICE GERAL

I. INTRODUÇÃO.....	10
II. DESENVOLVIMENTO.....	16
2.1 PERDA ÓSSEA APÓS EXTRAÇÃO DENTÁRIA.....	16
2.1.1 Fases de cicatrização do osso alveolar após extração dentária.....	17
2.1.2. Tipos de defeitos ósseos após extração dentária.....	22
2.1.3 Regeneração óssea alveolar e materiais tradicionalmente utilizados...	24
2.2. ENXERTO AUTÓGENO DE DENTINA PARA REGENERAÇÃO	
ÓSSEA.....	30
2.2.1 Constituição do osso alveolar.....	31
2.2.2 Constituição da dentina.....	32
2.2.3 Semelhanças entre dentina e osso alveolar.....	38
2.3 MATERIAIS E MÉTODOS DE PREPARAÇÃO DE DENTINA PARA	
REGENERAÇÃO ÓSSEA.....	40
2.3.1 Diferentes métodos de preparação de dentina.....	42
2.4 INVESTIGAÇÃO.....	46
2.4.1 Estudos e resultados <i>in vitro</i> e em animais.....	46
2.4.2 Estudos e resultados em humanos	50
III. DISCUSSÃO.....	55
IV. PERSPECTIVAS FUTURAS.....	59
V. CONCLUSÕES.....	61
VI. BIBLIOGRAFIA.....	63

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Evolução do processo de cicatrização alveolar após extração.....	21
Tabela 2 - Classificação EDS dos Defeitos ósseos após extração.....	22
Tabela 3 - Classificação EDS e recomendação de tratamento.....	23
Tabela 4 - Características ideais dos materiais de enxerto.....	25
Tabela 5 - Valores em ng/g da quantidade de proteínas em DBM comercializada...	30
Tabela 6 - Matriz Orgânica e Inorgânica da Dentina e Osso Alveolar.....	35
Tabela 7 - Fosfatos de cálcio presentes na matriz dentinária.....	38
Tabela 8 - Comparação de elementos orgânicos e inorgânicos entre os tecidos dentários e o osso alveolar.....	40
Tabela 9 - Recolha dos diferentes tipos de materiais estudados <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> para enxerto ósseo até à atualidade.....	42
Tabela 10 - Recolha de estudos <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> sobre utilização de dentina autógena em regeneração óssea.....	47
Tabela 11 - Recolha de estudos <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> sobre utilização de dentina autógena em regeneração óssea.....	48
Tabela 12 - Recolha de estudos <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> sobre utilização de dentina autógena em regeneração óssea.....	49
Tabela 13 – Recolha de estudos clínicos sobre a utilização de dentina autógena em regeneração óssea.....	52
Tabela 14 – Recolha de estudos clínicos sobre a utilização de dentina autógena em regeneração óssea.....	53
Tabela 15 – Recolha de estudos clínicos sobre a utilização de dentina autógena em regeneração óssea.....	54

LISTA DE SIGLAS

ADDM - Matriz dentinária autógena desmineralizada

AutoBT[®] - Enxerto autógeno de dente em osso

Auto-FDT block - Dente fresco desmineralizado cortado em bloco

BPS-I - Sialoproteína

BPS-II - Sialoproteína óssea

BMP - Proteínas morfogénicas ósseas

BGP - Proteína Gla óssea

Ca²⁺ - Ião Cálcio

Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂ - Hidroxiapatite

Cu - Cobre

DBM - Matriz óssea desmineralizada

DDM - Matriz dentinária desmineralizada

DMP-1 - Proteína-1 da matriz

DPP - Fosfoproteína da dentina

DSP - Sialoproteína da dentina

EDS - Tipo de defeito após extração (Extraction defect sounding)

Fe - Ferro

FGFa - Factor de crescimento ácido dos fibroblastos

g - Grama

GAG - Glicosaminoglicanos

HA - Hidroxiapatite

IL-1 β - Interleucina 1-Beta

IGF - Factor de crescimento semelhante à insulina

Mg²⁺ - Ião Magnésio **MPG** - Proteína Gla da matriz

N - número de mol

Na⁺ - Ião Sódio

NCP - Proteínas não colagénicas

NOG -Nogina

OPN - Osteopontina

P - Ião Fósforo

PDGF - Factor de crescimento derivado das plaquetas

PRP - Plasma rico em plaquetas

rhBMP-2 - Proteína morfogénica óssea tipo 2 recombinante humana

SEM - Microscopia electrónica de varrimento

TGF-β - Factor de crescimento Beta (super família)

VEGF - Factor de crescimento vascular endotelial

XRD - Análise de Difração por Raio-X

μm - Micrómetro

β-TCP - Tricálcio fosfato Beta

ng - nanogramas

I. INTRODUÇÃO

Mais de 250.000 enxertos ósseos são realizados todos os anos apenas nos EUA, fazendo com que o osso seja o segundo tecido mais transplantado após o sangue (Kenley et al., 1993; Fox, 1992) citado por (Michael, 1997; Oryan, Alidadi, Moshiri, & Maffulli, 2014).

A manutenção de raízes no osso de forma intencional, em pacientes edêntulos pode ser realizado de forma a prevenir perda óssea após secção da porção coronária e verifica-se que as raízes se unem ao tecido ósseo através de anquilose e normalmente não geram complicações. Kim et al. (2012) têm também mostrado evidências de que na colocação de um implante, quando este é colocado penetrando um dente impactado no decurso da cirurgia, não é afetada a osteointegração (Kim et al., 2012)

Os diferentes tipos de dentina autógena começaram a ser mais estudados para enxerto ósseo, depois de verificada a biocompatibilidade da raiz dentária autógena com o osso alveolar, ou seja, a interação dentina, osso alveolar desencadeou interesse (Y. Kim, 2012).

Segundo Langer & Vacanti (1993), a regeneração de qualquer tecido necessita de uma tríade de componentes: Células, estruturas osteocondutoras e fatores de crescimento (Ravindran & George, 2016).

Os materiais de enxerto geralmente utilizados na Medicina Dentária são muitas vezes de origem sintética. Estes possuem componentes que não mimetizam com rigor os tecidos que se pretendem regenerar. As estruturas de colagénio, ou os fosfatos de cálcio sintéticos, são diferentes dos que se encontram nos tecidos. Por conseguinte existe o risco de poderem falhar mesmo quando utilizados da melhor forma e nas condições ideais, porque podem ocorrer reações de rejeição por parte do organismo. A engenharia de tecidos recorrendo a materiais biológicos é um conceito recente na Medicina Dentária, e hoje, no geral a combinação de células estaminais, estruturas osteocondutoras e osteoindutoras, como o osso autógeno, e fatores de crescimento são vistas como elementos promissores na regeneração de óssea (Tabatabaei, Tatari, Samadi, & Moharamzadeh, 2016).

A biocompatibilidade dos materiais de enxerto implica estes não desencadearem resposta imune e terem a capacidade de biodegradação de forma controlada, permitindo tempo para o crescimento e calcificação óssea em torno dessas estruturas ao mesmo tempo que estes se degradam sendo substituídos por osso recém formado (Henkel et al., 2013).

A utilização de osso autógeno para regeneração óssea, é atualmente considerado, o procedimento de excelência (Andersson & Ramzi, 2009; Bakhshalian et al., 2013; Y. K. Kim, Lee, Yun, Yun, & Um, 2014). Este tipo de enxerto apresenta importantes vantagens a respeito de biocompatibilidade (Bakhshalian et al., 2013). Outros autores também defendem este ponto, assim como, a capacidade de osteocondução, osteoindução e osteogênese (Kim et al., 2013). No entanto, estes mesmos autores referem que apesar de bastantes vantagens, o enxerto de osso autógeno permanece limitado, pela necessidade de segunda intervenção e os riscos e custos que implica.

Para fonte de osso autógeno é mais frequente a recolha de osso da crista ilíaca ou do crânio. Em segundo plano a recolha também pode ser realizada em outras áreas tais como o mento, corpo da mandíbula, e infra-zigomática. Sendo que nestas últimas áreas referidas a quantidade de osso disponível é ainda menor. A disponibilidade de osso autógeno é uma desvantagem. E além destas desvantagens, acresce a potencial reabsorção das áreas de recolha, verificado por análise histológica, não referindo os autores qual a percentagem ou outros valores absolutos desse potencial de reabsorção. (Andersson, Ramzi, & Joseph, 2009) e elevados custos para o doente (Lee, Kim, Yi & Choi, 2013).

A dentina é um tecido conjuntivo mineralizado, produto da atividade odontoblástica e com uma composição semelhante à matriz óssea. Apesar de até recentemente se considerar a dentina um tecido inerte, atualmente tem-se revelado que a sua estrutura e composição pode ser mais útil do ponto de vista biológico para efeitos de regeneração óssea do que anteriormente conhecido. Verificou-se a existência de componentes bioativos na matriz dentinária, tais como fatores de crescimento e outras proteínas, que confirmam o potencial da dentina ser utilizada em novas terapêuticas regenerativas (Smith et al., 2012).

Após a descoberta de proteínas morfogénicas ósseas (BMPs) na dentina por Urist (1965), estas começaram a ser ponderadas como um biomaterial com utilidade para a engenharia dos tecidos ósseos tanto maxilares, como mandibulares. As BMPs têm a capacidade de estimular as células ósseas e formar novo osso e vários investigadores demonstraram interesse em perceber a viabilidade de utilizar a dentina como material de enxerto (Tabatabaei et al., 2016).

No início dos anos setenta, Bang e seus colaboradores (1972), colocaram dentina alógena desmineralizada através de ácido hidrocloreídrico, em defeitos ósseos criados para o efeito na mandíbula de macacos com respetiva colocação de implantes. E no lado contra lateral deixaram os defeitos sem qualquer enxerto e implantes servindo como controlo. E obtiveram da análise histológica entre uma semana e um ano o que referem ser excelentes resultados. Nas hemiarcadas onde foram realizados os enxertos, observaram histologicamente ao fim de uma semana, a formação de coágulo na parte superficial dos defeitos. A hemiarcada com os defeitos apresentava tecido conjuntivo repleto de células osteogénicas, e com dentina ainda não reabsorvida. Além disso apenas observaram poucas células inflamatórias, não sendo efetuada qualquer administração de antibióticos. Em contacto com a superfície dos implantes e nas margens da superfície óssea, verificaram a evidência de osteóide e de novo tecido ósseo. Ao fim de 16 semanas verificaram a total reabsorção da dentina enxertada e mais tarde, ao fim das cinquenta e duas semanas, observaram completa cicatrização dos defeitos, com osso cortical lamelar e canais de *Harvers* bem definidos. Os enxertos de dentina foram bem tolerados e reabsorvidos ao longo do tempo, verificando assim a capacidade osteoindutora, osteocondutora da dentina assim como completa regeneração óssea. Por outro lado, os controlos revelaram atividade osteogénica mínima, regeneração óssea incompleta e tecido fibroso. Estes resultados sugeriam que o enxerto alógeno de dentina desmineralizada poderia vir a cumprir os critérios ideais para funcionar como material de enxerto ósseo (Bang, Nordenram, & Anneroth, 1972).

Mais recentemente seguiram-se estudos com dentina autógena ainda em animais e os estudos mais recentes de Kim et al. (2010, 2012, 2013, 2014, 2015, 2016) são uma mostra da potencialidade da utilização deste material em humanos. Em 2016, Kim et al. desenvolveram um estudo prospetivo com o objetivo de avaliar a eficácia do enxerto autógeno de dentina desmineralizada em bloco (*Auto-FDT block*)

juntamente com PRP (plasma rico em plaquetas) para aumento do seio maxilar e colocação imediata de implante. Deste estudo obtiveram resultados que consideraram positivos, ocorrendo formação de novo osso na zona recetora. No mesmo ano, Nam et al. (2016) publicaram um estudo dos efeitos osteocondutor e osteoindutor da dentina humana desmineralizada em ratos, comparando diferentes tamanhos e densidades das partículas de dentina. A densidade das partículas refere-se ao espaço entre partículas, variável de acordo com o próprio tamanho das partículas e também diretamente relacionado com a quantidade de particulado adicionado a cada solução de particulado enxertada.

Dos resultados histológicos ao fim de duas, quatro e oito semanas respectivamente, interpretaram que o grupo de estudo que incluía as partículas mais pequenas (entre 250 μm a 1000 μm) e um particulado com espaço entre partículas de 200 μm observado ao microscópico, revelou os melhores resultados, com uma percentagem de novo osso formado superior nessas três diferentes biópsias, de 7,65%, 9,80% e 4.44% respetivamente. Não tendo sido observadas diferenças estatisticamente significativas em relação aos restantes grupos. Os autores afirmaram que tanto o tamanho das partículas, como a densidade do particulado são importantes para o sucesso do enxerto (Nam, Kim, & Han, 2016).

Apesar das vantagens do enxerto autógeno, nos dias de hoje executam-se maioritariamente outro tipo de enxertos. Os xenoenxertos, são os mais utilizados, como é exemplo o conhecido osso bovino que funciona como estrutura osteocondutora (Bio-Oss[®]) e em segundo lugar os enxertos de osso autógeno.

Murata et al. publicaram pela primeira vez em 2003, o primeiro caso clínico de enxerto de dentina autógena desmineralizada em humanos. As publicações que se seguiram procuraram mostrar que a dentina poderia de facto ser útil como material de enxerto. Sendo que a dentina provém de dente do próprio doente, o enxerto autógeno surge como alternativa aos produtos que são comercializados (Lee et al., 2015)

A realização de enxerto autógeno de dentina para regeneração óssea procura utilizar os componentes orgânicos e inorgânicos da dentina, respetivamente para fins osteoindutores e osteocondutores e assim permitir o estímulo e a proliferação celular, que vai para além dos osteoblastos, incluindo células primitivas mesenquimatosas indiferenciadas que se encontram no osso. A dentina pode ser preparada de diferentes

formas, quer se encontre em bloco, ou seja, uma determinada porção de dentina seccionada diretamente a partir de um dente, quer em particulado, quando triturada. A capacidade osteoindutora e osteocondutora e consequentemente a qualidade do osso a formar são influenciados pelo tipo de dentina: no que se relaciona com a forma, se se encontra ou não em bloco, tamanho do particulado e ao facto de ser mineralizada ou desmineralizada. Tabatabaei et al. (2016) realizaram uma revisão sistemática em que avaliaram diferentes métodos de preparação de dentina e a sua eficácia. Entretanto observaram que os extractos de dentina mais eficazes, são em particulado, e não em bloco e estes podem ser submetidos a diferentes métodos de preparação. Estas diferentes formas de preparação da dentina, alteram as suas características e capacidades. Estes diferentes métodos consistem essencialmente em quatro tipos de preparação.

A dentina pode ser preparada através da extração de proteínas não colagénicas (NCP), por desmineralização, eliminação de toda a matriz orgânica ou por liofilização ou armazenamento sem grandes modificações. A extração de NCP pode realizar-se através da exposição da dentina a EDTA, um método introduzido por Smith em 1972 e ainda hoje o mais utilizado visto que este é o procedimento que resulta ser mais eficaz na extração de proteínas da matriz dentinária. Outros métodos podem incluir, a utilização de *Cloreto de Guanidina* ou *MTA* (mineral trioxide aggregate) introduzidos mais tarde, em 2000 por Martin-De Las Heras e por Tomson et al. em 2007, respectivamente. Relativamente ao processo de desmineralização este pode ser realizado com soluções de ácido clorídrico ou ácido nítrico. E a eliminação dos constituintes orgânicos com submersão da dentina em água fervendo durante duas horas e seguidamente em *isopropanol* pelo mesmo período, segundo o protocolo de 2008 proposto por Moharamzadeh (Martin-De Las Heras, Valenzuela, & Overall, 2000; Moharamzadeh, Freeman, & Blackwood, 2008; Tomson et al., 2007). Apesar dos diferentes métodos de preparação, Tabatabaei et al. (2016) demonstram também na sua análise que no geral, a dentina mais utilizada é a dentina desmineralizada independentemente da sua forma física, em bloco ou em particulado.

As diferenças significativas entre os diferentes métodos de preparação revelam-se substancialmente no resultado final do processamento da dentina. Obtendo-se consoante a metodologia, dentina com diferentes características, mineralizada, desmineralizada, com ou sem conteúdo proteico o que leva a diferentes resultados quanto à sua efetividade aquando dos resultados obtidos após enxerto.

Tabatabaei et al. (2016) referem que a dentina desmineralizada facilita a libertação de fatores de crescimento com elevado potencial osteoindutor comparativamente à dentina mineralizada. E que relativamente à dentina desnaturada, esta revela diminuição das características osteocondutoras, devido à eliminação do conteúdo colagénico, responsável pela estrutura e propriedades mecânicas da dentina. Outro ponto relevante é que pela semelhança do conteúdo proteico entre o osso e a dentina, a extração e purificação de proteínas da dentina revelaram-se métodos extremamente complexos e dispendiosos, pelo que deixaram de ser considerados uma boa alternativa. (Smith & Leaver, 1979; Tabatabaei et al., 2016).

Em alguns casos de reabilitação com implantes os pacientes não apresentam osso suficiente para este procedimento cirúrgico. Muitas vezes a perda de inserção leva a perda de dentes, e a reabilitação com implantes implica existência de suporte ósseo suficiente para garantir estabilidade do implante. Por isso, cada vez mais também se recorre à regeneração óssea para colmatar este problema. (Koga et al., 2016).

Este trabalho visa analisar e confrontar a bibliografia mais recente de forma a verificar se o enxerto de dentina autógena possui validade e evidência científica que permita a sua implementação clínica. Será feita uma avaliação dos diferentes protocolos já utilizados, contribuindo com mais informação e elucidando para uma alternativa com aparentes vantagens, que serão exploradas neste trabalho e permitirão compreender a importância desta abordagem.

Como fonte bibliográfica para esta dissertação, foi realizada uma pesquisa em língua inglesa nas bases de dados, MEDLINE/PubMed, Biblioteca do conhecimento online (B-on) e ResearchGate. A pesquisa englobou todos os artigos referentes ao tema desde 2003 a 2017, englobando assim a literatura mais recente.

Artigos publicados anteriormente foram considerados em alguns casos e explorados como literatura clássica. Foram utilizadas as seguintes palavras chave: “dentin bone graft”, “processed dentin bone graft”, “dentin preparation for bone graft”, “bone regeneration and dentinal BMP” e “bone regeneration”.

II DESENVOLVIMENTO

2.1 PERDA ÓSSEA APÓS EXTRAÇÃO DENTÁRIA

A perda óssea alveolar caracteriza-se pela diminuição do volume de tecido ósseo alveolar, quer maxilar, quer mandibular e pode ocorrer após extração dentária, assim como por doença periodontal, patologia periapical, ou trauma oclusal e é guiado por células específicas. (Schropp, Wenzel, Kostopoulos, & Karring, 2003). Os osteoclastos são as células responsáveis pela reabsorção óssea. Este processo ocorre no plano horizontal no decorrer do movimento da célula sobre o osso. (Kumar, Vinitha, & Fathima, 2013; Roschger et al., 2013; Schropp et al., 2003). Os materiais de regeneração óssea são maioritariamente utilizados no contexto da implantologia dentária. (Kumar et al., 2013). A manutenção ou aumento da crista óssea através de materiais de regeneração é importante para futuros tratamentos de reabilitação com recurso a implantes. Porque é necessária quantidade de osso suficiente para permitir estabilidade tridimensional guiada pela prótese. (Morjaria, Wilson, & Palmer, 2012).

Um estudo de Schropp et al. (2003), avalia a formação óssea alveolar e o contorno dos tecidos moles após extração com um acompanhamento com análise clínica e radiográfica a 12 meses em 46 pacientes. Os resultados deste estudo confirmam a diminuição da largura da crista óssea alveolar no período de 12 meses, ocorrendo perdas de cerca de 5 a 7 mm, e perda da altura da crista óssea entre 2 e 4,5 mm (Schropp et al., 2003).

Outros autores também se referem à perda óssea alveolar após extração dentária, destacando que ocorre significativa perda óssea horizontal da crista alveolar se o alvéolo não é submetido a qualquer tipo de tratamento de regeneração (Mezzomo, Shinkai, Mardas, & Donos, 2011).

O processo alveolar é um componente ósseo dependente da presença do dente no alvéolo. Existe uma relação entre a perda dentária e a diminuição do osso alveolar correspondente. Após extração, esse processo dá-se por reabsorção óssea, por perda dos estímulos envolvidos nas forças de carga que exercem os dentes sobre o alvéolo e

ao estímulo intraósseo pelas fibras do ligamento periodontal. E além disso, outros fatores determinam esta relação. O volume, assim como a forma do processo alveolar são determinados pela forma do dente e sua inclinação. Apesar da extração dentária ser dos procedimentos mais comuns em Medicina Dentária é um dos procedimentos que normalmente não leva a complicações, no entanto, a cicatrização fisiológica na maioria das vezes não permite que o osso alveolar seja completamente repostado. Um volume ósseo adequado e uma crista óssea favorável são essenciais por forma a otimizar esteticamente e funcionalmente uma futura reabilitação protética. Pelo que o processo de cicatrização pode e deve ocorrer com preservação de alvéolo. O grau de reabsorção da crista alveolar após extração é maior nos primeiros 12 meses e especialmente nos primeiros 3 meses. Existem variáveis que influenciam a perda óssea, tais como a idade do paciente, uma vez que com o avanço da idade o osso tende a perder capacidade regenerativa, a diferente densidade óssea, uma vez que osso menos denso tende a reabsorver mais, assim como outros factores locais e sistémicos. Sendo que a perda óssea é mais grave se existir doença periodontal anteriormente à extração. (Kumar et al., 2013; Van Der Weijden, Dell'Acqua, & Slot, 2009).

A maior parte da perda óssea é horizontal e ocorre mais frequentemente a nível vestibular. Também ocorre perda vertical e com sua maior frequência a nível lingual. Uma vez que ocorre perda óssea nestas duas dimensões, resulta que após extração a crista óssea se torne mais baixa e mais fina. (Van Der Weijden, Dell'Acqua, & Slot, 2009)

2.1.1 Fases de cicatrização do osso alveolar após extração dentária

Os procedimentos clínicos em que se executam enxertos para regeneração óssea podem integrar-se num contexto de extração dentária por inviabilidade do dente por motivos de doença periodontal. É extremamente raro que o processo de cicatrização nesses casos seja suficiente para que ocorra naturalmente regeneração total do osso perdido após extração. Um estudo de Hong, Lee, Choi e Joo em 2015, envolvendo 25 pacientes com periodontite crónica avançada, analisa medições clínicas e o controlo radiográfico periapical do nível ósseo, antes e depois da extração de dentes anteriores superiores. Os resultados deste estudo confirmam a perda de dimensão vertical do rebordo alveolar após extração (Hong, Lee, Choi, & Joo, 2015).

No decorrer de uma extração dentária, podem também ocorrer alterações significativas dos tecidos moles envolventes e do osso. Em resposta ao trauma, inicia-se uma reação inflamatória em resultado concomitante da invasão microbiana. Em termos celulares, segundo Guglielmotti & Cabrini (1985), os osteoclastos emergem à volta da crista óssea para reabsorver o osso remanescente. Segundo Smith (1974), este processo desenvolve-se de apical para a restante área alveolar (Tanoue, Koi, & Yamashita, 2015).

Uma revisão sistemática, partindo de uma pesquisa de 3954 artigos e 238 resumos, que engloba toda a literatura desde 1960 a 2011 realizada por Tan, Wong, Wong & Lang em 2012, incluíram-se 20 para análise dos resultados, e concluíram que a cicatrização natural após extração está associada a significativa perda óssea quer vertical, quer horizontal. A reabsorção ocorre mesmo quando o dente é substituído por implante imediatamente após extração (Pilipchuk et al., 2016). Logo após extração o alvéolo passa a estar exposto, cicatrizando este naturalmente por segunda intenção. Nas semanas seguintes ocorre aumento de volume de tecido mole, por proliferação celular cobrindo-se totalmente o alvéolo. Tendo em conta o aumento da valorização da estética ao longo das últimas décadas, compreender que ocorrem alterações ósseas após a extração dentária poderá ajudar a que os clínicos tomem decisões mais conscientes e cheguem a soluções mais estéticas e funcionais para os seus pacientes (Tan, Wong, Wong, & Lang, 2012).

Julius Wolff em 1892 define que, “num indivíduo saudável, o tecido ósseo adapta a sua estrutura de acordo com a sua necessidade mecânica através de um processo de remodelação.” Tendo em conta que o osso é um tecido dinâmico e em constante renovação e adaptação o processo de cicatrização decorrente da extração dentária provoca reabsorção, de acordo com os princípios fisiológicos do osso, definidos pela Lei de Wolff (Hansson & Halldin, 2012).

Um estudo de Lang, Araújo e Karring (2005) averiguou os acontecimentos resultantes do processo de cicatrização num grupo de cães, realizando a extração de pré molares inferiores e analisando várias biópsias por análise histológica. Verificaram que os alvéolos imediatamente após extração enchem-se de sangue formando um coágulo, iniciando-se seguidamente o processo de limpeza da ferida.

Observam histologicamente a invasão do alvéolo por células mesenquimatosas e novo tecido vascular, e a formação de tecido de granulação. Este tecido de granulação é substituído gradualmente por tecido conjuntivo primitivo seguido do início da formação de novo osso reticular. Mais tarde, este osso sofre remodelação e transformam-se em osso lamelar e medula óssea. A cicatrização do alvéolo após extração divide-se em quatro fases: Formação de coágulo sanguíneo, Limpeza da ferida, Formação de tecido conjuntivo e Modelação e remodelação (Lang, Araújo & Karring, 2005). Apesar de que existam autores definam apenas 3 fases: Inflamatória; Reparo e Remodelação (Kalfas, 2001).

Formação do coágulo sanguíneo:

Imediatamente após extração o sangue e os vasos seccionados, preenchem o alvéolo. Os fatores de coagulação provenientes deste aporte sanguíneo, iniciam um processo de cascata de coagulação que leva à formação de uma rede de fibrina .

As plaquetas formam um agregado que interatua com a rede de fibrina formando um coágulo propriamente dito. Este atua como uma barreira física e intervém diretamente na migração das células inflamatórias que contém substâncias importantes à continuação do processo de cicatrização além de que funciona como um tampão eficaz para os vasos sanguíneos rompidos pelo processo de extração. Apesar da função essencial da formação do coágulo sanguíneo no início do processo de cicatrização, este deve ser eliminado posteriormente para permitir a formação de novo tecido conjuntivo. Poucos dias depois da extração, não especificando os autores quantos dias especificamente, inicia-se o processo de fibrinólise que consiste na eliminação do coágulo (Lang, Araújo & Karring, 2005).

Fase de limpeza da ferida:

Esta seguinte fase é denominada de limpeza e corresponde à ação de neutrófilos e macrófagos que surgem posteriormente atuando ambos por fagocitose o local de bactérias e de tecido morto e sem funcionalidade. Além disso, os macrófagos libertam fatores de crescimento, citocinas e prostaglandinas que induzem adicionalmente a

migração, proliferação e diferenciação das células mesenquimatosas e eliminam os neutrófilos que sofreram morte por apoptose após cumprirem com a sua função também de limpeza. O osso exposto à lesão sofre necrose e é eliminado por atividade dos osteoclastos (Kalfas 2001).

Formação de tecido conjuntivo:

As células mesenquimatosas, semelhantes aos fibroblastos, alcançam o local da ferida principalmente a partir da medula óssea e depositam uma matriz extracelular que origina o tecido de granulação que substitui o coágulo sanguíneo. Este tecido de granulação é constituído por macrófagos, células mesenquimatosas, fibras de colagénio e pequenos novos vasos sanguíneos primitivos, provenientes da matriz segregada pelas células mesenquimatosas anteriormente referidas. Estes pequenos vasos permitem o aporte de oxigénio e nutrem as células mesenquimatosas que continuam segregando matriz extracelular.

Resultante deste processo obtém-se tecido conjuntivo provisório que sofre constantes transformações iniciadas por células osteoprogenitoras presentes no osso, que se diferenciam em osteoblastos, transformando esse tecido provisório em tecido ósseo inicial, denominado osteóide, que depois de iniciado o processo de mineralização se denomina osso reticular. Este tipo de osso é caracterizado por uma deposição de fibras colagénicas de forma pouco organizada, por grande quantidade de osteoblastos e por uma reduzida capacidade de receber carga (Lang, Araújo & Karring, 2005).

Fase de Modelação e Remodelação:

A remodelação óssea tem como finalidade a transformação do osso lamelar. E caracteriza-se pela conjugação de processos de reabsorção do osso reticular recém - formado com a formação de novo tecido ósseo nesse mesmo local. Este processo é denominado por reabsorção aposição. Osso cicatrizado é restaurado quase na sua forma original, estrutura e rigidez (Lang, Araújo & Karring, 2005).

No entanto a altura da crista óssea não alcança o nível da crista óssea no

momento anterior à extração, o que por norma caracteriza as zonas após extração. O objetivo da remodelação óssea é a libertação de cálcio e a reparação de micro defeitos ósseos resultantes da carga a que é submetido o tecido ósseo (Lang, Araújo & Karring, 2005).

A libertação do cálcio ocorre pela ação da fosfatase ácida que provoca a dissolução dos cristais de HA, nos quais se encontra o cálcio aprisionado. A enzima fosfatase alcalina presente nos osteoblastos é responsável pela produção de aniões de ortofosfato que substituem o cálcio promovendo a remineralização. Adicionalmente os osteocitos aprisionados na matriz mineralizada, aportam água e nutrientes aos osteoblastos participando de forma indireta neste processo (Lang, Araújo & Karring, 2005).

Tabela 1 - Evolução do processo de cicatrização alveolar após extração

TEMPO APÓS EXTRAÇÃO	PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO
24 h	Formação de coágulo
2-3 dias	Tecido de granulação
Após 3 dias	Aumento densidade de células mesenquimatosas
Após 1 semana	O alvéolo consiste em tecido de granulação, com formação de novos vasos, tecido conjuntivo frouxo, formação de osteóide e recobrimento epitelial da ferida.
Após 1 mês	O alvéolo consiste em tecido conjuntivo denso
Após 2 meses	A formação de novo osso é finalizada, apesar da diminuição da altura da crista óssea dos alvéolos originais

Fonte: (Lang, Araújo & Karring, 2005).

2.1.2 Tipos de defeitos ósseos após extração dentária

Quando é possível a colocação de implante após extração dentária existem várias opções clínicas. Colocação imediata do implante, preservação do alvéolo para colocação posterior de implante, cicatrização natural do alvéolo ou ainda regeneração do alvéolo para posterior colocação de implante quando já existia perda óssea (Caplanis, Lozada, & Kan, 2005).

Assim de modo a promover decisões clínicas mais rigorosas surge no contexto da classificação dos defeitos ósseos após extração dentária, a *classificação EDS* (*extraction defect sounding*). Esta classificação possibilita avaliar os defeitos ósseos alveolares e dessa forma facilitar as decisões clínicas de acordo com o tipo de tratamento mais adequado para cada caso, em função do tipo de defeito. Existem quatro níveis de classificação EDS-1, EDS-2, EDS-3 e EDS-4, que conjugam a avaliação do estado geral do alvéolo, o número de paredes afetadas, o biótipo periodontal, a quantidade de perda óssea em milímetros, o nível de perda óssea em relação à altura da crista óssea inicial e o tecido mole ideal, numa classificação tanto qualitativa como quantitativa (ver tabela 1) (Caplanis et al., 2005).

Tabela 2 - Classificação EDS dos defeitos ósseos após extração

	EDS-1	EDS-2	EDS-3	EDS-4
Avaliação Geral do Alvéolo	Íntegro	Íntegro>perda Ligeira	Perda Moderada	Perda Severa
Paredes Afetadas	0	0-1	1-2	2-3
Biótipo Periodontal	Espesso	Fino ou Espesso	Fino ou Espesso	Fino ou Espesso
Perda óssea	0 mm	0-2 mm	3-5 mm	>6 mm
Distância à Referência	0-3 mm	3-5 mm	6-8 mm	≥9 mm
Tecido Mole Ideal	Previsível	Alcançável mas não previsível	Ligeiramente comprometido	Comprometido

Fonte: (Caplanis et al., 2005)

Caplanis et al., (2005) por conseguinte da classificação de defeitos ósseos após extração *EDS* descrevem diferentes tipos de possíveis tratamentos organizados na tabela 3. Estes autores diferenciam a colocação de implante em um ou dois tempos cirúrgicos dependendo da classificação dada ao defeito ósseo. Quando não ocorre perda óssea significativa após extração em nenhuma das paredes ósseas, os autores defendem a colocação de implante com carga imediata. O contrário se aplica a partir da classificação EDS-2, quando já ocorre perda óssea ligeira (até 2mm) defendendo a colocação de implantes em dois tempos cirúrgicos. A partir da classificação EDS-3 recomendam a preservação de osso alveolar para posterior colocação de implantes. No decorrer de perda óssea moderada (3 a 5mm) com pelo menos uma parede afetada e dois tempos cirúrgicos, assim como, quando o defeito é classificado como EDS-4 com perda óssea severa (>6mm), diferenciando-se esta última classificação pela necessidade acrescida de um terceiro tempo cirúrgico e onde existe entre duas a três paredes afetadas.

Tabela 3 - Classificação EDS e recomendação de tratamento

Tipos de Defeito	Tratamento
EDS-1	Colocação imediata (1 tempo cirúrgico)
EDS-2	Colocação imediata ou preservação alveolar (1 ou 2 tempos cirúrgicos)
EDS-3	Preservação alveolar e posterior colocação de implante (2 tempos cirúrgicos)
EDS-4	Preservação alveolar, desenvolvimento e colocação de implante (3 tempos cirúrgicos)

Fonte: (Caplanis et al., 2005)

2.1.3 Regeneração óssea alveolar e materiais tradicionalmente utilizados

Antes do surgimento dos materiais de enxerto, a preservação do osso alveolar era conseguida através da manutenção apenas das raízes dentárias, mesmo em casos em que o dente já não cumprisse a sua função. Esta técnica era aplicada muitas das vezes justificado pela necessidade de um suporte para prótese removível em que a raiz participava como “dente pilar”. Esta situação além de bastante débil encontrava-se condicionada pela impossibilidade de manutenção da funcionalidade da prótese em caso de raízes cariadas ou fissuradas. Nos anos 80, o enxerto ósseo passou a ser muito mais utilizado nestas situações, com a esperança que esta alternativa cumprisse a função de ocupação de espaço que anteriormente teriam as raízes mantidas nos alvéolos. Ao longo do tempo, e com o impulso da implantologia surgiram biomateriais que alcançaram novos objetivos, nomeadamente em termos de biocompatibilidade. A necessidade de obter substitutos ósseos com capacidade osteoindutora e compatível com a colocação de implantes sofreu um profundo avanço nos últimos tempos. Podemos distinguir hoje três gerações distintas de materiais de regeneração. O primeiro tipo de materiais desenvolvidos eram materiais bioinertes, que não desencadeavam qualquer reação por parte do organismo, seguidos da segunda geração que inclui materiais, uns bioativos, outros reabsorvíveis e a última geração engloba já materiais com capacidade de estimular respostas de nível celular e molecular, reunindo as duas características referidas dos materiais de segunda geração (Avila-Ortiz, Elangovan, Kramer, Blanchette, & Dawson, 2014).

Estes materiais de enxerto surgiram devido à necessidade de restabelecer a função e a estética das áreas de pouco suporte ósseo após perda óssea. A utilização de enxertos ósseos é uma prática comum na Ortopedia, Neurocirurgia, Cirurgia plástica estética e reconstrutiva e Medicina Dentária cuja aplicabilidade tem crescido nas últimas décadas, sobretudo em Cirurgia oral e Maxilo-facial (Almeida & Alves, 2007). Cada um deste tipo de enxertos possui vantagens e desvantagens, e a escolha de um determinado material de enxerto deve por isso ir ao encontro da melhor solução clínica. Na tabela 4, de forma sintética se apresenta as características de cada um destes diferentes tipos. Esses materiais podem ser, autógenos, alógenos, xenógenos, ou aloplásticos (Oryan et al., 2014).

A escolha do enxerto ósseo ideal deve ter em conta determinadas características: a viabilidade do tecido para que tenha um bom prognóstico; o tamanho do defeito; a quantidade de material a aplicar; o tipo de intervenção cirúrgica; a forma e volume do material; características biológicas e bioquímicas (efeito quando aplicado nos tecidos ósseos); a facilidade da manipulação do material; questões éticas e as possíveis complicações (Oryan et al, 2014).

Tabela 4 - Características ideais dos materiais de enxerto

Viabilidade do tecido	Manipulação e logística do material de enxerto
Tamanho do defeito	Custo
Tamanho do enxerto	Questões éticas
Forma e volume	Complicações associadas
Características biológicas e bioquímicas	

Fonte: (Oryan, et al., 2014)

Materiais Autógenos

O osso autógeno pode ter origem intra ou extra-oral, podendo ser recolhido de zonas não essenciais, tais como a crista ilíaca, sínfise mandibular, bordo anterior do ramo da mandíbula e processo coronóide, e é tido como o material ideal por não desencadear resposta imunitária. Contém proteínas funcionais na matriz orgânica e funciona como uma estrutura trabeculada, cuja arquitetura permite migração celular, proliferação e diferenciação, o que lhe confere características osteoindutoras, osteocondutoras e osteogénicas. (Kumar et al., 2013).

O enxerto de osso autógeno é o padrão de ouro entre os restantes tipos de materiais de enxerto, e todos os demais que não sejam autógenos, demonstram uma funcionalidade mais reduzida, riscos de transmissão de doenças, e um padrão de reabsorção menos acentuado, o que é importante para que ocorra substituição do material de enxerto pelo osso recém-formado (Kim, 2015).

O enxerto de osso autógeno apresenta limitações importantes tais como a morbilidade da zona dadora do próprio paciente e quantidade de tecido a fornecer. Por esse motivo Pilipchuk et al, (2016), referem que outros mecanismos como recorrer a fatores de crescimento, têm o potencial de colmatar estas desvantagens. Não se referindo no entanto, a enxerto de particulado de dentina que apresenta na sua composição fatores de crescimento igualmente capazes de gerar uma resposta osteoindutora (Kim et al., 2013).

Desvantagens:

No que se refere às desvantagens do osso autógeno, este não é recomendado em doentes com doenças malignas e imunossuprimidos. O enxerto com recurso a osso autógeno necessita de pelo menos dois tempos cirúrgicos, para recolha e enxerto, risco de perda de muito sangue, risco de infeções e complicações várias no local de recolha. E também são obtidos com elevados custos, quer financeiros quer por ser necessário recorrer a outras áreas cirúrgicas para recolha, com elevada morbilidade pós-cirúrgica dessas mesmas áreas (Stok, Lieshout, El-massoudi, Kralingen, & Patka, 2011).

Em relação à dentina a única desvantagem da utilização deste material para enxerto autógeno é quantidade limitada de material para uma área que se possa pretender reabilitar, e especialmente em casos de elevação de seio maxilar. Pelo que está descrito a possibilidade de ter que se recorrer a PRP (plasma rico em plaquetas) para complementar esse espaço aumentando o volume do enxerto (Kim, Kang, Kim, Kim & Lee, 2016).

Materiais Alógenos

Refere-se ao tipo de enxerto em que o material enxertado provém de um indivíduo diferente, mas dentro da mesma espécie. Pode ser disponibilizado em diferentes formas, tais como, osso fresco, congelado, desmineralizado e liofilizado. O osso alógeno normalmente provém de cadáveres dadores e requer ser preparado para que possa ser utilizado noutro paciente. Esse procedimento tem como principal objetivo a diminuição de uma futura resposta de rejeição sem que se percam as

características osteoindutoras através de desinfecção, antibióticos, crio conservação ou radiação. Por forma a aumentar a libertação do conteúdo proteico, tal como fatores de crescimento, o osso pode ser desmineralizado recorrendo a ácido hidrocloreídico. Este processo elimina o conteúdo mineral, sem eliminar os agentes osteoindutores. Após este processo genericamente denomina-se matriz óssea desmineralizada (DBM) (Kumar et al., 2013). Dentro dos materiais alógenos já comercializados, a DBM é a que apresenta clinicamente mais sucesso e é o material alógeno de enxerto ósseo mais utilizado (Gruskin, Doll, Futrell, Schmitz, & Hollinger, 2012).

Apesar de mais frequentemente denominado de aloenxerto, a DBM é considerada por Gruskin et al. (2012) como um aloimplante, uma vez que não contém células viáveis. Esta definição importa uma vez que a DBM será considerada adiante como um aloenxerto quando o material é proveniente de um dador da mesma espécie. A preparação da DBM consiste na eliminação de possíveis agentes infecciosos através de esterilização. A sua composição consiste principalmente colagénio tipo I, e em segundo plano tipo IV e X, assim como uma pequena quantidade de fosfato de cálcio (ente 1 a 6%) (Gruskin et al., 2012).

Desvantagens:

Estes podem estar imediatamente disponíveis para uso, sem as complicações inerentes à recolha de osso autógeno, mas como grande desvantagem, a formação de novo osso é mais lenta, e ocorre rápida reabsorção do enxerto, o que não dá tempo para o crescimento adequado do novo osso. Além disso, o risco infeções cruzadas está aumentado, e a biocompatibilidade é ainda hoje discutível (Kalfas, 2001). Uma revisão sistemática de Monje et al. (2014) apresenta a percentagem de insucesso dos enxertos de osso alógeno em bloco no maxilar com objectivo de regeneração óssea de regiões maxilares atroficas. Este estudo foi conduzido tendo como base o tempo de sobrevivência do enxerto e os resultados das observações histológicas. De um total de 361 enxertos alógenos decorrentes da análise de quinze artigos científicos, seguidos entre quatro a nove meses após a cirurgia, nove falharam entre um e dois meses após cirurgia, resultando numa taxa de 2,49% de insucesso. E apenas ocorreu crescimento de osso horizontal em 119 enxertos dos 361 verificados. Motivo do insucesso: O grau

de reabsorção até 25,97% dos referidos casos até 6 meses após cirurgia revela uma taxa de reabsorção relativamente lenta, o que pode prejudicar a proliferação de células osteogénicas e formação de novo osso. As causas para as falhas dos enxertos de osso autógeno apresentadas por este autor estão entre a exposição vertical dos enxertos, infecção, perfuração dos tecidos moles pelo enxerto, e perda de fixação do bloco de osso enxertado por retração dos tecidos moles. (Monje et al., 2014).

Materiais Xenógenos

O materiais xenógenos referem-se ao tipo de enxerto em que o material enxertado provém de outra espécie. Neste caso estão disponíveis o osso bovino, osso de origem suína e hidroxiapatite proveniente de coral. Nestes casos são sempre utilizadas matrizes ósseas mineralizadas. O osso de origem bovina tem sido utilizado combinado com osso autógeno, como complemento à reduzida quantidade que se pode obter de osso autógeno (Andersson & Ramzi, 2009).

Desvantagens: Estes encontram-se disponíveis em grande quantidade no mercado, contudo existem neste também riscos de transmissão de doenças infecto contagiosas além do risco associado de rejeição. O ideal continua a ser utilizar substitutos ósseos onde esse risco não existe (Andersson & Ramzi, 2009). Além de que, revelam também uma capacidade muito lenta de reabsorção (Iezzi et al., 2012), citado por Kim et al. (2014).

Materiais Aloplásticos

Estes materiais são sintéticos e têm como objetivo simular a presença de osso, contudo não têm a capacidade de o formar (Kim et al., 2016).

Entre os materiais aloplásticos destacam-se as biocerâmicas. A hidroxiapatite (HA) é um fosfato de cálcio que se pode formar a partir de vidro bioactivo quando enxertado. Existe também o fosfato tricálcico, um substituto do carbonato de cálcio, porque este é reabsorvido muito rapidamente. Atualmente utiliza-se a hidroxiapatite em conjunto

com o fosfato tricálcico, combinando as características de ambos, respetivamente osteocondução e o grau de solubilidade.

A solubilidade ideal do material de enxerto permite dar tempo ao osso de se formar antes que este material seja completamente reabsorvido pelo organismo e ao mesmo tempo enquanto permanece nos tecidos funcionar como osteocondutor. Sempre que um grau de solubilidade é demasiado elevado ou baixo, significa que o material dissolve-se nos tecidos demasiado rápido não permitindo funcionar como estrutura osteoindutora a tempo que proliferem e se multipliquem as células osteogénicas no local, ou por outro lado dissolvendo-se muito lentamente ou não se dissolvendo de todo, não permite o crescimento de tecido ósseo nesse local. (Kumar et al., 2013). É exemplo de material aloplástico reabsorvível com formulações constituídas por HA e carbonato de cálcio (ProOsteon[®]). (Kumar et al., 2013).

Sendo que o osso autógeno é o que apresenta mais vantagens, e ao mesmo tempo pretende-se realçar a dentina como material autógeno encontra-se organizado na tabela 5 o resumo dos constituintes orgânicos presentes no osso autógeno comercializado atualmente na forma de matriz óssea desmineralizada (DBM). (Gruskin et al., 2012). A seguinte tabela revela os valores por ordem crescente em nanogramas de proteínas não colagénicas por grama de osso desmineralizado comercializado atualmente. É possível verificar que alguns dos constituintes são comuns aos presentes na matriz dentinária, nomeadamente proteínas morfogénicas ósseas, fatores de crescimento, osteopontinas e sialoproteínas.

Tabela 5 - Valores em $\eta\text{g/g}$ da quantidade de proteínas em DBM comercializado

Proteínas presentes na DBM	$\eta\text{g/g}$
Sialoproteína óssea (BSP-II)	40.000
Osteopontina (OPN)	20.000
Proteína morfogénica óssea-2 (BMP-2)	3800
Proteína morfogénica óssea-7 (BMP-7)	84.1
Factor de crescimento semelhante à insulina-I (IGF-I)	22
Factor de crescimento transformante- β (TGF- β)	18
Proteína morfogénica óssea-4 (BMP-4)	5.45
Factor de crescimento ácido dos fibroblastos (FGFa)	2
Factor de crescimento vascular endotelial (VEGF)	1.9
Factor de crescimento derivado das plaquetas (PDGF)	0.1
Nogina (NOG)	n.d.

Fonte: Adaptado de (Holt & Grainger, 2012) Legenda: n.d. = não definido

2.2. ENXERTO AUTÓGENO DE DENTINA PARA REGENERAÇÃO ÓSSEA

A utilização de dentina mineralizada para enxerto, permite atualmente colmatar todas as desvantagens relacionadas com os demais tipos de enxerto hoje existentes. Além de se propor a utilização de um material autógeno, não existem inconvenientes respeitantes a complicações de maior associadas a recolha de material ósseo, os custos são mais reduzidos, o tempo de tratamento é muito curto e a aceitação deste material por parte dos doentes é muito superior. À parte disso, a extração dentária é um dos procedimentos médico dentários mais realizados, pelo que se poderá aproveitar esta fonte de material dentinário aquando de um plano de tratamento que inclua extração dentária e posterior colocação de implantes. Quer com a utilização desse mesmo dente extraído no mesmo alvéolo quer em enxerto noutras zonas das arcadas dentárias, como quando por exemplo se combina a extração seletiva de dentes pré-molares para efeitos ortodônticos com a posterior colocação de implantes na zona de um molar ou outra zona das arcadas dentárias. (Binderman, Hallel, Nardy, Yaffe, & Sapoznikov, 2012)

2.2.1 Constituição do osso alveolar

O conteúdo ósseo divide-se em cerca de 25% de matriz orgânica e 70% de matriz inorgânica e 5% de água. O constituinte orgânico, sintetizado pelos osteoblastos, é composto predominante por colagénio (90%) sendo a matriz inorgânica constituída quase na totalidade (99%) por Hidroxiapatite.

A HA, os iões de cálcio e fosfato, depositam-se ao longo das fibras de colagénio relacionando estas duas matrizes (Kini & Nandeesh, 2012).

Constituição orgânica do osso alveolar

Em relação à composição orgânica, o colagénio tipo I é o principal componente proteico da matriz óssea. Sendo uma proteína importante no crescimento ósseo, na sua estrutura, remodelação e homeostasia, em conjunto com os elementos inorgânicos, nomeadamente a Hidroxiapatite (Holt & Grainger, 2012).

Na matriz extracelular, o colagénio tipo I dispõe-se espacialmente num arranjo de nano fibrilhas, o qual se demonstrou ser importante no comportamento celular envolvente em termos de adesão, proliferação e diferenciação. Este forma uma base para a deposição dos fosfatos de cálcio polimorfos que irão mais tarde se transformar em cristais de HA. O processo de nucleação da HA e da mineralização do colagénio é bastante complexo e controlado por várias proteínas não colagénicas (NCP). Existe uma grande variedade destas proteínas no osso que têm sido no entanto pouco estudadas para efeitos de engenharia de tecidos (Ravindran & George, 2016; Sun et al., 2013).

Dentro destas proteínas, as proteínas morfogénicas ósseas (BMP) são glicoproteínas sinalizadoras pertencentes à superfamília dos factores de crescimento TGF- β . Esta superfamília engloba proteínas essenciais na regulação de vários processos biológicos de organogénese, regeneração de tecidos e crescimento embriológico e pós-natal. Este tipo de proteínas têm a capacidade de recrutar células osteoprogenitoras ou mesenquimais para os locais de formação óssea, induzindo ao mesmo tempo a sua diferenciação, e estão igualmente envolvidas nos processos de

regeneração e formação óssea (Marques et al., 2015; Ou, Zhao, Zhang, & Huang, 2015).

Boden et al. (1998) sugeriram que a proteína-1 de mineralização LIM também denominada LMP-1, é um regulador positivo importante para diferenciação e maturação dos odontoblastos e consequente formação óssea (Y. Kim, 2012). Sabe-se também que esta proteína aumenta a atividade das proteínas BMP anteriormente referidas, sendo que no entanto a relação entre a LMP-1 e as BMP ainda não se encontra bem definida (Pan et al., 2015).

Constituição inorgânica do osso alveolar

Em condições de pH fisiológico e existindo condições para que ocorra o processo de cristalização, os três tipos de fosfato de cálcio biológico existentes no osso, como são o fosfato de cálcio amorfo, o fosfato octacálcico e o fosfato de tricálcico, são os precursores da precipitação da HA. Por este motivo, pensa-se que o fosfato de cálcio seja a origem da formação de cristais de hidroxiapatite no osso humano. Estes cristais de fosfato de cálcio encontram-se orientados paralelamente ao longo das fibrilhas de colagénio onde se depositam. Esta mesma estrutura é encontrada tanto na dentina como no esmalte dentário.

2.2.2 Constituição da dentina

A dentina é, assim como o osso, um tecido conjuntivo calcificado. No geral, o seu conteúdo corresponde a 65% de matriz inorgânica e 25% de matriz orgânica. No entanto, após o processamento de dentina para enxerto, esta conjugação é variável dependentemente do grau de desmineralização, que varia entre não desmineralizada, parcialmente desmineralizada ou totalmente desmineralizada, e das regiões da dentina, uma vez que a dentina mais superficial encontra-se mais mineralizada que a dentina que se encontra mais próxima da câmara pulpar. (Y. Kim, 2012; Tabatabaei et al., 2016).

A dentina é um tecido resultante de uma complexa cascata de acontecimentos durante o período embrionário resultado da interação de dois tipos principais de células, presentes na invaginação da ectoderme, e células provenientes da crista neural que resultam na origem de odontoblastos. Estas produzem e secretam uma matriz de colagénio tipo I que constitui a pré-dentina. Posteriormente, em presença de altas concentrações de tenascina e fosfatase alcalina, é calcificada por cristais de HA. Denominando-se dentina propriamente dita (Koussoulakou, Margaritis, & Koussoulakos, 2009).

Segundo Cook (1992), a Hidroxiapatite $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$, é o principal componente da matriz inorgânica dentinária e possui 5 fases diferentes de fosfatos de cálcio, que são por ordem crescente de quantidade presente, HA e β -TCP, fosfato octacálcico, fosfato de cálcio amorfo e bruxite. Entre todos estes tipos de HA ocorrem interações entre si (Y. Kim, 2012).

A HA na dentina tem também a função de proteger as proteínas, não ficando estas expostas ao meio e consequentemente perdendo as suas características. Este é o motivo pelo qual Kim et al. (2010) defende a desmineralização da dentina para enxerto, por forma aquando desta forma se libertem os fatores de crescimento ósseo presentes na matriz (Y. Kim, 2012). Esta estrutura inorgânica promove diretamente o crescimento de tecido ósseo, funcionando como estrutura osteocondutora para a deposição de nova matriz óssea, estimulando a regeneração (AL-Namnam, N.M. Shanmuhasuntharam, K.O., & C.H., 2010).

A matriz dentinária tem também a capacidade de estimular a angiogénese, indispensável para a formação de novo osso, e é devido à sua estrutura servir de esqueleto à formação de novos vasos e à presença de BMP que isto acontece. Em estudos realizados em animais, quando se implantou matriz dentinária desmineralizada (DDM) intramuscular, em ratos ou porquinhos da Índia, tanto se induziu a formação de cartilagem como osso. Esta resposta é similar ao que acontece quando se faz enxerto com osso desmineralizado (Tazaki et al., 2010).

É defendido que a dentina tem propriedades indutoras relativamente à formação de osso ou cartilagem em defeitos ósseos provocados cirurgicamente assim como em alvéolos dentários (Almeida & Alves, 2007). No entanto, estes autores

referiam em 2007 que ainda não se chegou a um consenso se a matriz dentinária humana desmineralizada acelera ou não a regeneração óssea. Estudos revelados mais recentemente de Kim et al. (2010) demonstram que a matriz dentinária desmineralizada tem de facto capacidade osteoindutora.

Constituição orgânica da dentina

A matriz orgânica dentinária contém proteínas colagénicas e proteínas não colagénicas (NCP), proteoglicanos, glicoproteínas e lípidos. O componente mais abundante é o colagénio (90%), principalmente tipo I, tal como no tecido ósseo (Park, Um, Kim, Kim, & Kim, 2012). Dentro do grupo das NCP, este subdivide-se por sua vez em vários subgrupos. As que são apenas secretadas pelos odontoblastos, são denominadas de proteínas específicas da dentina. Estão descritas, DPP, DSP e DMP-1.

O colagénio dentinário forma uma estrutura compacta e reticulada com capacidade osteocondutora na qual se depositam minerais sob a forma de cristal. Além disso contém vários tipos de fatores de crescimento, e fatores de crescimento angiogénico (TGF- β 1, IGF, BMP). Observou-se que estes fatores de crescimento são também secretados em resposta à dissolução da dentina num ambiente ácido, decorrente do metabolismo bacteriano no processo de cárie ou característico de alguns materiais de restauração, levando à regeneração e reparação da dentina (Tabatabaei et al., 2016).

O TGF- β 1 além de um importante imunossupressor, é um indutor da produção de matriz extra celular dos odontoblastos (D'Souza, Cavender, Dickinson, Roberts, & Letterio, 1998)

Outras NCP consistem em Sialoproteína óssea (BSP), osteocalcina e proteína Gla óssea (BGP), que são classificadas como proteínas específicas dos tecidos mineralizados e encontram-se tanto no osso, como no cemento e dentina. Sendo secretadas pelas células desses mesmos tecidos. A dentina contém ainda outras moléculas sintetizadas quer pelos odontoblastos, quer por outras células e que se encontram também na matriz extracelular de outros tecidos, tais como Osteopontina e Osteonectina. (Tabatabaei et al., 2016)

A dentina contém ainda proteínas não fosforiladas tais como as osteonectinas proteína ácida rica em cisteína (SPARC) e pretína 40 da membrana basal (BM40) e proteínas Gla tais como, osteocalcina e proteína Gla da matriz (denominada MPG). Enquanto a osteonectina intervêm no processo de mineralização, a osteocalcina e a MGP regulam o processo de nucleação dos cristais (Chaussain et al., 2013).

Tabela 6 - Matriz Orgânica e Inorgânica da dentina e Osso Alveolar

		DENTINA	OSSO ALVEOLAR
MATRIZ ORGÂNICA	Colagénio tipo I	✓	✓
	BMP	✓	✓
	GAG	✓	-
	Fosforinas	✓	-
	Proteínas Gla	✓	-
	Glicoproteínas	✓	-
	Proteoglicanos	✓	-
	Factores de crescimento	-	✓
	DMP	✓	✓
	Osteocalcina	-	✓
MATRIZ INORGÂNICA	Osteopontina	-	✓
	Sialoproteína	-	✓
	Mg ²⁺ /Fe/Ca ²⁺ /P/Cu/Na ⁺	✓	-
	Fosfatos de Ca ²⁺	✓	✓

(Fonte: Adaptado de Kim, 2015; Ravindran & George, 2015)

Legenda: BMP = Proteínas morfogénicas ósseas; GAG = Glicosaminogliganos;

DMP = Proteína da matriz dentinária

Proteína da matriz dentinária (DMP)

Esta proteína encontra-se na matriz extracelular do osso e da dentina embora em diferentes quantidades. As DMP consistem em 4 tipos de proteínas, DMP-1, fosfoforina dentinária (DPP), DMP-2, sialoproteína dentinária (DSP) e DMP-4 (conhecida como Fam20C).

A Osteopontina (OPN) é conhecida por ativar a osteogénese a partir da diferenciação primária dos osteoblastos e também desenvolve atividade na reabsorção permitindo a aderência dos osteoclastos à superfície óssea. A DSP (sialoproteína dentinária) tem um papel importante na calcificação da dentina. A dentina mineralizada não tem a capacidade de libertação lenta de BMP a longo prazo (Andersson et al., 2009). A formação de osso verificou-se noutros estudos utilizando dentina desmineralizada, onde a dentina foi misturada com gesso de Paris para cobrir grandes defeitos ósseos em ratos, cães e humanos. A quantidade de proteínas morfogénicas ósseas que se libertam da dentina poderá ter importância uma vez que a BMP-2 estimula a reabsorção de dentina em doses elevadas ao mesmo tempo que induz a formação de tecido ósseo em baixas doses em estudos realizados em bovinos. Kim et al. (1999, 2001a, 2001b) citados por Andersson & Ramzi (2009).

Em estudos realizados em ratos e com enxerto de dentina humana, por Andersson & Ramzi (2009), demonstrou-se que as BMPs dentinárias funcionam como indutoras dos osteoblastos ao mesmo tempo que a dentina funciona como um vetor de libertação lenta dessas mesmas proteínas. Esta propriedade torna possível que a dentina possa ser utilizada como enxerto ósseo tanto em defeitos provocados por trauma como para reabilitação com implantes osteointegrados. Na mandíbula os blocos de dentina enxertados foram reabsorvidos. Este estudo foi realizado em osso mandibular e osso tibial. No osso tibial, no entanto todos os blocos de dentina se fundiram com o osso ao contrário do que aconteceu no osso mandibular, não apresentando sinais de inflamação (Andersson & Ramzi, 2009).

As BMPs têm importantes aplicações clínicas. Na implantologia surgiam como o principal substituto ao osso autólogo, principalmente devido à sua elevada capacidade osteoindutora e no contexto de utilização de BMP recombinante deixa de

ser necessária a recolha de osso autógeno, o que resultaria mais vantajoso. Sendo a obtenção destes fatores de crescimento em laboratório um processo bastante complexo, por outro lado, o enxerto direto de dentina possui BMP com capacidade regeneradora. (Marques et al., 2015).

As BMP, proteínas morfogénicas ósseas, presentes na dentina interagem com as células mesenquimais indiferenciadas no osso alveolar, induzindo a sua diferenciação em células secretoras dos componentes de matriz óssea (Y.-K. Kim et al., 2013).

Tem sido sugerido também que algumas NCP estão associadas a sítios específicos das fibrilhas de colagénio por forma a regular a nucleação e o crescimento da HA. Dentro das NCP, o grupo das glicoaminoglicanas (GAG), mais especificamente as proteoglicanas (PG) são importantes para a maturação das fibrilhas de colagénio porque estas vão impedindo a deposição de cristais de apatite nas fibrilhas de colagénio permitindo que estas alcancem um diâmetro suficiente para que se possam depois mineralizar convenientemente (Chaussain et al., 2013).

Constituição inorgânica da dentina

Os constituintes inorgânicos da matriz dentinária constituem todos os fosfatos de cálcio sob a forma de HA, fosfato tricálcico, fosfato octacálcico, fosfato de cálcio amorfo, e fosfato dicálcico di-hidrato. Estes interagem reciprocamente, conferindo-lhes capacidade de regeneração do tecido ósseo existente aquando de um enxerto. Estes elementos compreendem, uma gama de fosfatos de cálcio em que na sua maioria se apresentam na forma de Hidroxiapatite com baixo grau de cristalização, ao contrário do esmalte em que o grau de cristalização é maior e mais dificilmente reabsorvidos pelos osteoclastos. Esta característica permite que a HA dentinária seja reabsorvida ao longo do tempo acompanhando a formação de novo osso, e funcionando nessa medida como um meio osteocondutor ideal. Esta HA ocupa cerca de 70% da totalidade da dentina e por sua vez a dentina a maior parte do dente (Y.-K. Kim et al., 2013).

Tabela 7 - Fosfatos de cálcio presentes na matriz dentinária.

MATRIZ INORGÂNICA DENTINÁRIA	FOSFATOS DE CA
	Hidroxiapatite
	Fosfato tricálcico
	Fosfato octacálcico
	Fosfato de cálcio amorfo
	Fosfato dicálcico di-hidrato

(Fonte: Kim et al., 2013)

Dentro da componente orgânica, a dentina e o cimento partilham colagénio tipo I assim como vários fatores de crescimento e especialmente BMP's. A referência ao cimento justifica-se pela utilização de dente triturado tal como é proposto por Binderman (2014), para ser utilizado como material de enxerto, e que apesar deste ser limpo com broca nem sempre a totalidade de cimento é removida.

O colagénio ocupa 90% da componente orgânica, sendo a restante parte constituída por NCP, que incluem fosfoforinas, sialoproteínas (BPS-I), glicoproteínas, proteoglicanas, osteopontinas (OPN), osteocalcinas, proteína-1 da matriz dentinária, osterix, assim como por, bipolímeros, lípidos, citratos e lactatos (Y.-K. Kim et al., 2013).

2.2.3 Semelhanças entre dentina e osso alveolar

O osso e a dentina cumprem diferentes funções, mas assumem grandes semelhanças sendo também que ambos têm a mesma origem embriológica, na crista neural. São matrizes de tecido conjuntivo mineralizado envolvidas por fibrilhas de colagénio e reforçadas por cristais de HA que se dispõem organizadamente. São ambos sintetizados por células mesenquimais que produzem proteínas colagénicas e

não colagénicas. Em 2016 descobriu-se que as denominadas DMP (proteínas da matriz dentinária) estão também presentes no osso, e têm sido estudadas devido à sua capacidade de fixar o cálcio na matriz extracelular, resultando na mineralização destes tecidos. Sabe-se também que estas proteínas podem funcionar como proteínas sinalizadoras intracelulares, promovendo a diferenciação de células estaminais e também funcionam no processo de nucleação na matriz extracelular. O que faz com que estas DMP, presentes na dentina sejam vantajosas quando se pretende regenerar osso (Ravindran & George, 2016).

As proteínas envolvidas no processo de SIBLING's, (small integrin binding ligand N-linked glycoproteins) são uma família de fosforinas cujas mutações estão envolvidas fenótipos anormais de mineralização quer de osso como de dentina. Estas proteínas, especificamente, DSPP (sialofosfoproteína), DMP (proteína-1 da matriz dentinária), BSP (sialoproteína óssea), MEPE (glicoproteínas fosforilada da matriz extracelular) e OPN (osteopontina) são comuns tanto ao osso como à dentina (Chaussain et al., 2013).

Kim et al. (2008), desenvolveram um protocolo de preparação de dentina num material de enxerto denominado AutoBT[®] (preparado a partir de dentina autógena desmineralizada). A qualidade dos fosfatos de cálcio da dentina autógena desmineralizada preparada através deste protocolo, consiste essencialmente em HA de baixo grau de cristalização assim como noutros fosfatos de cálcio, também similares ao do osso humano. Esta semelhança com o osso demonstra a compatibilidade biológica entre ambas as estruturas demonstrada nos seguintes estudos de aprovação deste material realizados essencialmente ao início por Kim(2013) e Murata (2010) assim como outros autores (Bakhshalian et al., 2013; Y. K. Kim, Lee, et al., 2014; J.-Y. Lee et al., 2013; Murata et al., 2010). Quando se utiliza este material de enxerto, é esperada uma boa cicatrização assim como um excelente padrão de formação óssea, independentemente da pureza dentinária do material colocado, se proveniente da coroa ou da raiz dentária. A maioria da porção coronária do dente é constituída por dentina, e a presença de esmalte no enxerto após trituração não compromete os resultados. Eventualmente pelo grau de mineralização do esmalte ser superior, isso

poderia comprometer a reabsorção do enxerto, mas a quantidade de esmalte numa peça dentária não influi nos resultados do enxerto com significância (Y. Kim et al., 2011).

Tabela 8 - Comparação de elementos orgânicos e inorgânicos entre os tecidos dentários e o osso alveolar

	Matriz inorgânica	Matriz orgânica
Esmalte	96%	4%
Dentina	65%	35%
Cimento	45-50%	50-55%
Osso alveolar	65%	35%

Fonte: (Y. Kim, 2012)

2.3 MATERIAIS E MÉTODOS DE PREPARAÇÃO DE DENTINA PARA REGENERAÇÃO ÓSSEA

Após extração dentária, o dente ou os dentes a serem utilizados para material de enxerto necessitam ser submetidos a um processo de preparação prévio, de limpeza, trituração e desinfecção ou esterilização, no caso de desmineralização da dentina. Este processamento inclui a remoção de restos celulares, possíveis cáries e materiais de restauração. Existem duas grandes linhas de pensamento no que se refere ao processamento do dente após extração. Estudos de Kim e seus colaboradores desde 1993 na Coreia do Sul, desenvolvidos nas últimas décadas, seguem um determinado protocolo que implica o envio dos dentes após extração para um banco de dentes onde estes são processados, o que pode levar semanas. Este processo implica um espaço de tempo alargado entre o ato da extração e o enxerto pela necessidade de envio e preparação dos dentes num local específico fora do consultório o que consequentemente obriga a duas cirurgias. Uma primeira de extração e a segunda para colocação do material. (Binderman et al., 2012)

Por outro lado, Binderman e seus colaboradores (2012), surgiram mais tarde com algo completamente inovador, defendendo que a desmineralização da dentina, que se conhece que melhora a capacidade de libertação de fatores de crescimento, em especial BMP, não é tão necessária e que a dentina mineralizada funciona ao mesmo tempo como uma estrutura osteocondutora, assim como a dentina desmineralizada. A estas afirmações estão baseadas nos diferentes estudos desenvolvidos por estes investigadores e por dados recolhidos por estes de entre mais de 100 casos clínicos no período de dois anos. Estes também afirmam que a trituração do dente para enxerto pode ser possível em consultório através de uma máquina apropriada para esse efeito. Sendo que todo o procedimento de extração e processamento do dente pode ser realizado em consultório e no mesmo ato da extração.

Os dentes não devem conter materiais de restauros anteriores, tais como as resinas compostas ou amálgamas metálicas, pretende-se aproveitar exclusivamente a composição orgânica e inorgânica naturais do dente sem interferência de materiais artificiais que poderiam comprometer o sucesso do tratamento. Seguidamente, na tabela 9, apresentam-se as diferentes técnicas de processamento do dente após extração segundo os estudos tanto em animais como em humanos desenvolvidos por diferentes autores ao longo dos últimos anos.

A dentina tem que sofrer algum tipo de preparação para que possa ser utilizada como material de enxerto. Tem sido dada bastante relevância tanto à desmineralização, como a desnaturação da matéria orgânica para melhorar individualmente as propriedades da dentina. No entanto, a liofilização e o tratamento com hidrogénio líquido, segundo Tsuchiya et al. (2005), citado por (Tabatabaei et al., 2016), não alteram a capacidade osteocondutora e não comprometem as vantagens inerente à presença de matéria orgânica ou inorgânica anteriormente referidas.

Tabela 9 - Recolha dos diferentes tipos de materiais estudados *in vitro* e *in vivo* para enxerto ósseo até à atualidade

Autor	Material	
Kim et al. (2008)	AutoBT [®]	Dentina autógena desmineralizada em bloco ou particulado
Tasaki (2010)	DDM	Matriz dentinária desmineralizada
Gruskin et al. (2012)	DBM	Matriz óssea desmineralizada
Gruskin et al. (2012)	DFDBA	Termo que substitui DBM quando o processamento é realizado numa única fase
Binderman et al. (2012)		Matriz dentinária mineralizada
Kim et al. (2013)	HDDM	Matriz dentinária homogénea
Kim et al. (2013)	PDM	Matriz dentinária parcialmente desmineralizada
Kim et al. (2016)	AutoFDT	Dente fresco desmineralizado cortado em bloco
Tabatabaei et al. (2016)	ADDM	Matriz dentinária autógena desmineralizada

Fonte: (Tabatabaei et al., 2016; Kim et al., 2016; Kim et al., 2013a,2013b; Gruskin et al., 2012^a,2012b; Tasaki, 2010)

2.3.1 Diferentes métodos de preparação de dentina

Ao longo dos diversos estudos realizados, seguiram-se vários protocolos de preparação do material dentinário com aplicação em engenharia de tecido ósseo. Abaixo reúnem-se todos os métodos até hoje realizados e quais as conclusões a que chegaram os autores.

Extração de proteínas não colagénicas

Introduzido por Smith et al. em 1979, a partir de dentina em pó cria-se uma solução com EDTA 10% que é centrifugada. O conteúdo do sobrenadante é filtrado e liofilizado, obtendo-se o extrato proteico de *NCP* pretendido. O mesmo se pode realizar através de outro protocolo, sugerido por Martin-De Las Heras no ano 2000, utilizando *cloreto de guanidina* em vez de *EDTA* (Martin-De Las Heras et al., 2000). Hoje em dia outros materiais são também utilizados com este propósito, tais como

ácidos, hidróxido de cálcio, e diferentes tipos de *MTA* (*mineral trioxide aggregate*). No entanto, parece que a utilização de *EDTA*, se revela mais eficaz na extração destas proteínas (Tabatabaei et al., 2016).

Desmineralização da dentina

A dentina desmineralizada é um material orgânico reabsorvível contendo fatores de crescimento (Tabatabaei et al., 2016).

Inicialmente Kim et al. (2008), apresentavam uma revolucionária proposta de material para enxerto ósseo baseado em dentina autógena desmineralizada. A vantagem de que seja desmineralizada reside no facto de que assim, está aumentada a libertação dos fatores de crescimento. No entanto, este procedimento apresenta a grande desvantagem de que a preparação da dentina para enxerto ter que ser realizado num banco de dentes (Korea tooth bank, R&D Institute) e o tempo de espera ser muito alargado, cerca de duas semanas. (Binderman et al., 2012; Binderman, Hallel, Nardy, Yaffe, & Sapoznikov, 2014).

A preparação da dentina para que seja utilizada como material de enxerto desmineralizado requer um processamento físico e químico de desinfeção, esterilização e desmineralização. O dente pode ser utilizado em bloco, ou seja o dente inteiro ou parcial, que após o processo de desmineralização se torna esponjoso, e portanto, independentemente do tamanho do dente, este torna-se fácil de colocar no alvéolo. É possível comparar esta consistência que adquire após o processo de desmineralização às esponjas de colagénio.

O processo de desmineralização consiste em submersão do dente ou dos dentes numa solução ácida. Maioritariamente os autores não referem com exatidão o conteúdo dessas mesmas soluções (Hee-yung et al., 2014; Jun et al., 2014; E.-S. Kim, 2015; E. Kim, Lee, Kang, & Lee, 2015; E. S. Kim et al., 2016; Y. Kim, Kim, & Byeon, 2010; J.-Y. Lee et al., 2013; J. Y. Lee, Lee, & Kim, 2013; K. Lee et al., 2015; Park et al., 2012), no entanto, alguns autores descrevem o procedimento de desmineralização, em 0,34 N de ácido nítrico durante 20 minutos, com posterior lavagem em água destilada (Kabir, Murata, Kusano, Akazawa, & Shibata, 2015;

Tazaki et al., 2010), ou 0,6 N de ácido clorídrico durante 24 horas, lavado em água fria, que produz dentina parcialmente desmineralizada (Y. K. Kim et al., 2013).

A primeira referência bibliográfica de desmineralização de dentina pertence a um estudo de Huggins et al. (1970) em que se produziu um protocolo de desmineralização de osso e dentina de ratos para implantar *in vivo* e estudar a reação dos fibroblastos ao enxerto. Verificou-se crescimento de cartilagem e osso no local. Este protocolo de desmineralização de dentina é hoje utilizado possivelmente com algumas pequenas modificações. A partir de aqui foram desenvolvidos outros métodos pelos seguintes autores até à atualidade (Tabatabaei et al., 2016).

O AutoBT[®] (dentina autógena desmineralizada em bloco ou particulado) tem presente 45% de matéria orgânica e 55% de matéria inorgânica, incluindo colagénio tipo I e proteínas não colagénicas e quatro tipos de fosfatos de cálcio já referidos, HA, TCP, fosfato octacálcico, fosfato de cálcio amorfo, respetivamente. É um material preparado a partir de dentes que podem ser, terceiros molares, dentes decíduos ou pré-molares por indicação de tratamento ortodôntico. Este é o segundo autor que se refere à frequência de dentes extraídos por motivos ortodônticos e que podem ser aproveitados para o tratamento do mesmo paciente.

Preparação da dentina por eliminação da matriz orgânica

Este processo é denominado de desnaturação. A esta preparação da dentina para enxerto ósseo carece de pouca evidência uma vez que apenas foi aplicada num número reduzido de estudos. Enquanto a desmineralização da matriz dentinária pretende aumentar a libertação dos fatores de crescimento, a desnaturação da matriz orgânica pretende diminuir a dureza da dentina, promovendo a desintegração do colagénio e consequentemente eliminando a ligação dos cristais de hidroxiapatite ao colagénio terciário. No entanto, a dentina processada deste modo e utilizada em enxerto diminui a capacidade de migração, adesão, proliferação e diferenciação celulares. Motivo principal pelo qual tem sido uma técnica pouco utilizada (Tabatabaei et al., 2016).

Preparação de dentina mineralizada

Foi desenvolvido um protocolo e uma patente para uma máquina trituradora denominada “Smart Dentin Grinder” (Kometa Bio ltd. USA) por Binderman em 2012. Este procedimento consiste na trituração do(s) dente(s) por inteiro no consultório em partículas que misturam tanto esmalte, dentina e possíveis restos de cimento de tamanho aproximado entre 300µm e 1200µm mineralizado e desinfetado.

Reduz-se assim o tempo entre extração e execução do enxerto de forma evidente. Poderão ser utilizados dentes com materiais de restauração, desde que estes sejam previamente removidos, mas dentes com materiais de preenchimento de canal não deve ser utilizados. Após extração o dente é limpo, restaurações e coroas devem ser removidos, assim como processos de cárie, restos de ligamento periodontal, e tártaro devem ser removidos com broca de tungstênio com alta rotação. E em dentes multirradiculares podem ser separadas as raízes em caso de necessidade para facilitar assim a limpeza destes serem triturados.

Após esta primeira fase, o dente, deve ser seco com seringa de ar, e colocado na trituradora. O recipiente onde se coloca o dente para trituração assim como as lâminas estão esterilizados e são descartáveis. Desta forma não existe o risco de não se conseguir posteriormente uma limpeza e esterilização completas desse material.

O processo de trituração demora apenas 3 segundos. O particulado que resulta é submergido numa solução desinfetante de 0.5 M NaOH (hidróxido de sódio) e álcool a 30%, durante 10 minutos. Esta solução permite dissolver restos de matéria orgânica, bactérias e toxinas. Após este tratamento, é descartado o álcool, o particulado é lavado com uma solução tampão fosfato-salina para equilibrar o pH do particulado. Desta forma simples e rápida o particulado de dentina fica pronto para ser utilizado como material de enxerto nos alvéolos de extração para preservação de alvéolo ou nos defeitos ósseos que se pretende regenerar. Se depois de lavado se considerar necessário secar também é possível. O que pode ocorrer no caso de se querer guardar esse material, expondo a dentina triturada a 140°C durante cinco minutos, segundo o protocolo. Desta forma o processamento da dentina passa a ser, entre apenas 15 a 20 minutos mantendo o particulado mineralizado. (Binderman et al., 2012).

2.4 INVESTIGAÇÃO

2.4.1 Estudos e resultados *in vitro* e em animais

Gomes et al. (2007), desenvolveram um estudo de análise histomorfométrica que consiste na avaliação da regeneração óssea após colocação de dentina desmineralizada em defeitos cirúrgicos criados no osso parietal de ratos com diabetes induzida. Histologicamente não observaram reações inflamatórias, o que indica biocompatibilidade de HDDM (matriz dentinária desmineralizada homogênea) e visualizaram também que o material de enxerto fora totalmente incorporado no novo tecido ósseo recém formado. A denominação “dentina homogênea” refere-se ao tamanho homogêneo das partículas de dentina (Tabatabaei et al., 2016).

Andersson & Ramzi (2009), investigaram *in vivo* o resultado do enxerto de dentina mineralizada em bloco, utilizando a porção da raiz (dentina) de dente humano em tíbia e mandíbula de ratos. Na preparação do bloco de dentina, afirmam ter removido polpa e ligamento periodontal, colocando o bloco em clorhexidina a 1% por 10 minutos. O resultado do enxerto foi analisado radiograficamente e histologicamente ao fim de 3 meses, e observaram anquilose total do bloco na tíbia, áreas de reabsorção e crescimento ósseo, não observando qualquer episódio de inflamação concluindo que a dentina funcionava como material regenerador sem provocar reações de rejeição imunitária. A mesma previsibilidade não ocorreu a nível da mandíbula, que apresentou demasiada reabsorção, e frequente tecido fibroso. Os autores referem que provavelmente se deve apenas ao facto de os enxertos estarem submetidos a diversas forças musculares e cargas de mastigação. Sugerem então a tíbia de rato, como modelo de estudo para enxerto alógeno de dentina humana.

Os resultados dos estudos realizados por Andersson e Ramzi, poderão ter importantes implicações clínicas porque estes afirmam que a dentina pode ser utilizada para preenchimento de defeitos ósseos em alternativa à utilização de outros materiais xenógenos. Os autores defendem que a dentina pode estar disponível para enxerto autógeno e ainda ser utilizada como enxerto alógeno, tendo em conta a enorme frequência com que se extraem dentes em consultório, referindo-se

especificamente a pré-molares e terceiros molares para efeitos ortodônticos (Andersson et al., 2009).

Tabela 10 - Recolha de estudos *in vitro* e *in vivo* sobre utilização de dentina autógena em regeneração óssea

Data	Auto r	Objetivos	Espécie e Amostr a	Prod uto final	Grupos de estudo	Método de análise	Resultados e follow-up	Conclusões
2006	Silva et al.	Comparar a atividade osteogénica nos alvéolos mesiais que receberam enxerto com os alvéolos distais que cicatrizaram naturalmente após extração.	Cães N=6	Denti na	Grupo experimental: Alveolos mesiais Grupo controlo: alvéolos distais	Análise histológica	15,20 e 60 dias Maior atividade osteogénica nos alvéolos com dentina.	A dentina mostrou ser um excelente osteoindutor. Este estudo indica ser possível o uso de dentina autógena na Medicina Dentária.
2007	Almeida & Alves	Efeito da dentina humana no reparo alveolar de ratos	Ratos N=17	Denti na	Grupo experimental: Alveolos esquerdos Controlo: alvéolos direitos	Análise histológica e imunohistoquímica	Sacrificados imediatamente após extração, 5,10, 21 dias Inflamação reduzida e tecido conjuntivo mais organizado comparando com o grupo controlo 3 meses:	Os resultados sugerem que a matriz dentinária não provoca inflamação e acelera o processo de regeneração, sendo osteocondutor e osteoindutor.
2009	Andre son et al.	Investigar se a dentina pode ser utilizada como material de enxerto em defeitos ósseos de ratos	Ratos N=8	Bloco s de denti na humana	6 defeitos ósseos com enxerto e dois defeitos de controlo sem enxerto na mandíbula e 6 defeitos ósseos com enxerto e dois defeitos de controlo sem enxerto na tibia	RX Análise histológica	O controlo apresenta formação óssea, mas nunca completa ao contrário dos defeitos com enxerto em ambas as localizações (mandíbula e tibia)	Dentina tem a potencialidade de ser utilizada como enxerto ósseo sem provocar inflamação. Funcionando como indutor e pode ser reabsorvido e gradualmente substituído por osso. A tibia serve de melhor modelo a este estudo que o osso mandibular.
2010	Namnam et al.	Avaliar osteocompatibilidade de dentina <i>in vivo</i> ; avaliar capacidade de dentina acelerar cicatrizaçã o alveolar comparativamente com cicatrizaçã o natural e num defeito sem enxerto	Ratos N=20	Denti na	Grupo Experimental: Defeito no fêmur com enxerto de dentina alógena Controlo Positivo: dentina autógena Controlo negativo (4 ratos): sem enxerto	Análise histológica e histomorfométrica	2,4,8,12 semanas Histologia: Verificou-se união dentina-osso sem sinais de inflamação. Histomorfometria: Não há diferença significativamente Clinicamente: diferença significativa entre os grupos.	Os resultados sugerem que a dentina tratada com nitrogénio líquido é osteocompatível e efetiva como substituto ósseo, acelerando o processo de regeneração. Dentina alógena tem potencial osteocondutor, permitindo uma matriz física para deposição do novo osso.

Tabela 11 - Recolha de estudos *in vitro* e *in vivo* sobre utilização de dentina autógena em regeneração óssea

Data	Auto r	Objetivos	Espécie e Amostr a	Prod uto final	Grupos de estudo	Método de análise	Resultados e follow-up	Conclusões
2010	Ander sson	Investigar se a dentina fica anquilosad a e é substituída por novo osso quando enxertada em defeitos ósseos	Ratos N=10	Bloco s de dentin a huma na	Grupo experimental (8 ratos): Defeitos ósseos bilaterais em tibia com enxerto Controlo(2 ratos): mesmos defeitos sem enxerto	Análise histológica	5 ratos sacrificados respectivamente depois de 3 e 6 meses. Todos os blocos de dentina cicatrizaram com anquilose ao osso sem sinais de inflamação. Ocorreu reabsorção dos blocos de dentina com substituição por novo osso depois dos 6 meses.	Enxertos xenógenos de dentina têm a capacidade de não causar inflamação e gradualmente reabsorvidos e substituídos por osso.
2012	Borm ann et al.	Comparar enxerto de dentina com fosfato tri- cálcico-β (β-TCP)	Ratos N=24	Denti na e β- TCP; osso isogé nico	Grupo 1: Animais com enxerto Grupo 2: Animais sem enxerto	Microscopia de fluorescência IntraVital	12 semanas: β-TCP causa uma resposta inflamatória suave. Dentina e β- TCP apresentam vascularização quase completa ao fim de 3 semanas e osteointegração ao fim de 12 semanas.	Dentina e β-TCP têm a mesma resposta inflamatória e neovascular, assim como osteointegração. Salientando o potencial regenerativo em defeitos ósseos.
2012	Kim et al.	Avaliar a capacidade de regeneraçã o óssea de matriz de dentina desmineral izada em defeitos cranianos	Ratos N=6	Denti na (pó) (Des miner alizada)	Grupo 1: Com defeito ósseo em que se coloca dentina Grupo 2: sem defeito ósseo	Avaliação histológica Expressão do gene para osteonectina com RT-PCR	4,8,12 semanas Formação óssea a partir das 4 semanas no grupo 1, e expressão de osteonectina na 4 e na 12 semana. Não ocorreu formação óssea no grupo controle e praticamente não houve expressão do gene para osteonectina	Os autores acreditam que este material terá melhores resultados quando aplicado em meio clínico.
2012	Hussa in et al.	Avaliar a capacidade osteocond utora e osteogénic a de dentina de bovino processada em defeitos ósseos de ratos.	Ratos N=16	Denti na de bovin o	Defeito 1: sem enxerto Defeito 2: osso autógeno Defeito 3: Dentina	CT scan e Análise histológica	1 semana e 6 semanas Densidade óssea é maior nos defeitos com dentina do que os 2º defeitos após 1 e 6 semanas de cicatrização. Os 1os defeitos, permaneceram vazios em 1 e 6 semanas de cicatrização. Histologicamente: Os defeitos com dentina mostram tecido encapsulado em volta das partículas de dentina.	O modelo de defeitos ósseos em crânio de ratos mostrou ser um modelo robusto para o estudo de materiais de enxerto ósseo. Dentina bovina é bioestável, mas pode no entanto não ser suficiente para responder a defeitos de grandes dimensões.
2013	Bakhs halian et al.	Avaliar a capacidade de dentina alogénica desmineral izada promover cresciment o ósseo	Ratos N=24	DDM (desm ineral izada)	Grupo 1: aplicação de DDM em ROG	Micro-CT Biomarcadores	15,30,60 e 90 dias Micro-CT mostra aumento de massa óssea e melhor qualidade de osso formado no grupo experimental	Aumento significativo de massa óssea e aumento da qualidade do mesmo, sem inflamação ou infecções.

Tabela 12 - Recolha de estudos *in vitro* e *in vivo* sobre utilização de dentina autógena em regeneração óssea

Data	Auto r	Objetivos	Espécie e Amostr a	Prod uto final	Grupos de estudo	Método de análise	Resultados e follow-up	Conclusões
2013	Lee et al.	Verificar o efeito de enxerto de dente no seio maxilar	Ratos N=5	Denti na	Controlo: Enxertos de HA Estudo: Enxerto de dentina autógena	Análise histológica e Histomorfométrico	12 semanas Formação de novo osso na periferia nos dois grupos de estudo. Formação de novo osso na parte central apenas nos enxertos autógenos	O dente autógeno é uma boa alternativa ao osso autógeno e à HA sintética em termos de capacidade de regeneração. Regeneração com dente autógeno, reduzirá morbilidade do paciente e manter a segurança do enxerto de osso autógeno.
2015	Kadk hodaz adh et al.	Avaliar o efeito de dentina como possível material regenerativo	Cães N=4	Fatias de Denti na mineralizada e cimento	Quadrante 1: colocaram Quadrante 2: não colocaram qualquer material	Análise histológica	Biópsia 14 dias e 56 dias: Quadrante 1: partículas de dentina e vasos silatados Controlo: sem alterações 56 dias: Q1: tecido de granulação, fibroblastos, colagénio e formação óssea Q2: colagénio, osteoblastos, formação óssea, e vasos.	Fatia de dentina e cimento (DC) apresentam muito pouca evidência de efeito indutor de formação de novo osso alveolar.
2016	Kim et al.	Examinar a atividade osteocondutiva de dentina desmineralizada	Ratos N=20	DDM + polideoxirribonucleótido (desmineralizada)	Grupo1: controlo Grupo2: aplicação de DDM e PRND subcutâneo	Análise histológica e Histomorfométrica	DDM e PDRN induziram nova formação de osso, osteoblastos e fibroblastos às 1,2 e 4 semanas	PRDN combinado com DDM induz regeneração óssea.
2016	Um et al.	Comparar os efeitos de dentin desmineralizada combinada com	Ratos N=12	Denti na desmineralizada e BMP-2	Grupo 1: Grupo 2:	Avaliação Histológica e μ CT	2 semanas: DDM+ABB+BMP-2, mostram e formação óssea por osteocondutividade DDM+BMP-2 mostra formação óssea por osteocondução e osteoindução	DDM funciona como um bom transportador de rhBMP-2 em locais ortopédicas.
2016	Nam et al.	Comparar capacidade de regeneração óssea em função tamanho e da forma das partículas de dentina desmineralizada	Ratos N=9	DDM (desmineralizada)	Grupos dividem-se consoante o tamanho de partículas	Análise histomorfométrica RT-PCR	Grupo 1: actividadeosteoblastica e formação óssea melhor que nos restantes grupos. Grupo 2, 3 e 4: Apresenta tecido conjuntivo denso depois de 8 semanas	DDM com um espaço entre partículas de 200 μ m leva a formação óssea eficiente.
2016	Gomes et al.	Efeito de dentina autógena desmineralizada e PRP em defeitos ósseos cirúrgicos no osso parietal de ratos diabéticos recorrendo a ROG	Ratos N=60	HDD M+P RP	5 grupos de 12 ratos: não diabético, diabéticos com membrana PTFE (DM), DM com HDDM, DM e PRP	Análise bioquímica, RX, histológica	15,30,60,90 dias	A quantidade e a qualidade de osso formado foi melhor no grupo DM-HDDM. HDDM promove melhor arquitetura óssea. Efetivo osteoindutor e osteocondutor

2.4.2 Estudos e resultados em humanos

Andersson & Ramzi (2009), afirmam quer em estudos realizados em animais como em estudos realizados em humanos, que apesar do sucesso dos seus experimentos, em que concluem que o enxerto autógeno de dentina é vantajoso, referem a necessidade de se encontrar respostas a outras variáveis de estudo nas quais se incluem a técnica cirúrgica do enxerto e quantificação do grau de regeneração óssea a longo prazo. Estes mesmos autores afirmam também que se mantem a necessidade de comparar os efeitos entre utilizar apenas dentina e utilizar dentina em combinação com osso autógeno. O que, aparentemente, pelas já referidas desvantagens do osso autógeno, não apresenta vantagens, provavelmente motivo pelo qual não existem referências na literatura.

Num estudo de Kim, Lee, Yun, Yun & Um, (2014), em que recorrendo a radiografia panorâmica, compararam a quantidade de reabsorção óssea ao redor de implantes colocados com AutoBT[®] (dentina autógena desmineralizada em particulado). No primeiro grupo ou implantes colocados com osso sintético num segundo grupo. Dez pacientes deste estudo, pertencentes ao grupo I, tinham prévia indicação clínica para extração dentária. Noutros 8 pacientes os dentes foram extraídos e substituídos por implantes nesse mesmo local devido aos mesmos não serem restauráveis. Os restantes 3 pacientes de um total de 21, já se encontravam edêntulos nos locais que foram reabilitados com implantes. Nesses 3 casos, os terceiros molares ou outros dentes com indicação clínica para extração devido a estarem associados a patologia foram extraídos. Os dentes extraídos foram colocados em álcool etílico 75% até serem enviados para o Banco de dentes da Coreia do Sul com consentimento informado para fabricação de AutoBT[®]. Nos dois grupos de pacientes observaram que a diferença entre a reabsorção óssea 1 ano após a colocação dos implantes, tal como o aumento de altura óssea não apresentavam diferença estatisticamente significativa. Ambos os grupos receberam implantes num procedimento realizado no mesmo dia do enxerto. Concluindo que este material é uma boa alternativa aos materiais sintéticos (Y. K. Kim, Lee, et al., 2014).

Em 2014 surge também o primeiro estudo comparando AutoBT® com materiais sintéticos de enxerto ósseo, relativo a elevação de seio maxilar. Neste caso foi utilizado Osteon®, que corresponde a um material sintético de 70% HA e 30% de β -TCP (tricálcio fosfato). O estudo compara o nível de reabsorção óssea em redor dos implantes após enxerto com AutoBT® em 17 pacientes (grupo I) e enxerto com osso sintético (Osteon®) em 20 pacientes (grupo II), ambos os casos depois de aumento de seio maxilar (Kim et al. 2014). Dos 37 pacientes, apenas 22 foram incluídos nos resultados finais, 11 do grupo I e 11 do grupo II. Recorrendo a radiografia panorâmica, e antes de qualquer procedimento cirúrgico, mediram a distância da crista alveolar até ao seio maxilar. E após a cirurgia mediram a distância desde o perfil transmucoso até à margem mais superior do material enxertado. Embora este estudo tenha limitações, tal com a o tamanho da amostra e a radiografia panorâmica como forma de medição, após 1 ano compararam os entre os valores de altura óssea iniciais e após cirurgia e também a quantidade de reabsorção do material de enxerto, visível radiograficamente. No Grupo II obtiveram uma altura óssea de mais 6,22mm comparativamente a 4,89mm do grupo I e a reabsorção do material de enxerto neste grupo II foi menor (0,53mm) do que o observado no grupo I (0,76mm), o que é relevante pois uma reabsorção rápida do material de enxerto não permite completa formação óssea.

Perante os resultados observou-se que os níveis de reabsorção óssea após 1 ano não tiveram significância estatística considerando-se bastante similares, entre AutoBT® e Osteon®. Não foram encontradas complicações ou falhas dos implantes com o uso de AutoBT®. Destes resultados os autores concluíram que, o AutoBT® pode ser considerado uma boa alternativa em relação a materiais sintéticos, xenógenos e alógenos, no caso de aumento do seio maxilar com necessidade de extração dentária associada (Y. K. Kim, Lee, et al., 2014).

Num outro estudo, dos mesmos autores e publicado no mesmo ano, Kim et al. (2014) analisaram a caracterização da superfície óssea de locais regenerados com enxerto de dentina autógena, recorrendo a biopsia do local enxertado para observação e comparação do osso a nível microscópico com zonas que sofreram enxerto com recurso a outros materiais com recurso a microscopia electrónica. E para análise da estrutura interna cristalina por via de análise de difração de raio-X (XRD). Os autores

quiseram estabelecer uma comparação entre os diferentes materiais, AutoBT® da coroa e AutoBT® da raiz, BioOss® (xenoenxerto), Fosfato de cálcio micro-macro bifásico (aloplástico), osso esponjoso irradiado (aloenxerto), e osso cortical mandibular (autógeno).

Entre os resultados obtiveram que, o AutoBT® é o que tem uma estrutura e uma composição física e química que é mais parecida com o osso cortical autógeno. Além disso é um material reabsorvível com micro poros e um baixo grau de cristalização, que igualmente pode ser observado no osso (Y. K. Kim, Kim, et al., 2014).

Tabela 13 - Recolha de estudos clínicos sobre a utilização de dentina autógena em regeneração óssea

Data	Autor	Objetivos	Amostra	Produto final	Método de análise	Resultados e follow-up	Conclusões
2006	Gomes et al.	Avaliar efeito de dentina autógena desmineralizada em alveolos de 3os molares	27 alveolos	Dentina autógena desmineralizada	Raio-X	Reabsorção do material de enxerto. Processo de cicatrização ligeiramente mais rápido	Mesma densidade óssea no alveolo pós cicatrização em relação ao osso circundante
2010	Kim et al.	Realizar enxerto de dentina autógena contemporaneamente a colocação de implante	1 paciente sexo masculino 40 anos	AutoBT	Análise de difração por Raio-X (XRD) Microscopia electrónica (SEM) Análise Clínica Análise histomorfométrica	Histologia: 3 meses reabsorção de AutoBT e remodelação óssea	Excelente cicatrização óssea por osteoindução e osteocondução
2010	Tazaki, et al.	Transplantar 14 para 24 com enxerto do matriz dentina desmineralizada para regeneração de defeito maxilar.	1 paciente sexo feminino 35 anos	DDM	Raio-X CT scan	13 meses: Sem mobilidade patológica. Formação de espaço periodontal e lâmina dura. Aumento de volume ósseo do defeito	Dentina pode ser reciclada como material de enxerto autógeno e os recentes aparelhos de trituração permitem um biomaterial instantâneo
2012	Park et al.	Colocação de implante e regeneração óssea osteoinduzida para: Preservação de alvéolo, elevação de seio maxilar, elevação de crista	250 pacientes com defeito ósseo alveolar	Bloco de dentina Dentina em pó	Tomografia computadorizada Histologia	Implantes: Coeficiente de estabilidade passou de 74 83 para ISQ RX aos 6 meses: pouca diminuição da crista óssea Histologia: formação de osso, osteoblastos	Dentina autógena é um bom material de enxerto ósseo. Tem capacidade osteoindutora e osteocondutora. Capacidade para substituir o osso autógeno e deve ser mais investigada
2013	Lee et al.	Comparar ROG utilizando dentina com e sem membrana reabsorvível em doentes com defeitos ósseos envolvendo implantes	20 pacientes num total de 30 implantes	AutoBT Membranas reabsorvíveis	Avaliação clínica Estudo estatístico	Medição de diferença de nível ósseo: 27,33% de aumento ósseo com membrana e 22,78% sem membrana	Não há significância estatística entre os 2 grupos
2013	Lee et al.	Avaliação do aumento horizontal e vertical de crista com enxerto autógeno de dente e colocação de implantes	9 pacientes (7M2F) Total de 26 implantes	AutoBT pó AutoBT bloco	Raio-X	Comparação de RX inicial com RX a 1 ano após colocação de implante	Excelentes resultados clínicos. Boa cicatrização e pouca perda óssea

Tabela 14 - Recolha de estudos clínicos sobre a utilização de dentina autógena em regeneração óssea

Data	Autor	Objetivos	Amostra	Produto final	Método de análise	Resultados e follow-up	Conclusões
2014	Lee et al.	Verificar efectividade da utilização de dentina autógena desmineralizada	1 paciente	Dentina autógena desmineralizada	Microscopia electrónica Espectroscopia de RX	Reabsorção da dentina e formação de novo osso	É possível preparar dentina para enxerto em 2 horas. Possibilitando o enxerto no mesmo dia da extração
2014	Hee-Yung et al.	Avaliar perda óssea marginal na colocação de implantes com ROG e ATBBG	10 pacientes (4M/6F)	Material dentário autógeno ATBBG (dentina e esmalte)	Raio-X	Depois de ROG Depois de colocação de implante Depois de entrega de prótese Na última consulta	O nível de perda óssea marginal com ROG e colocação de implante utilizando ATBBG permanece estável e similares com os materiais tradicionais
2014	Jun et al.	Avaliar a efetividade do AutoBT em aumento do seio maxilar	43 pacientes	AutoBT Bio-Oss®	Tomografia computadorizada (CT) e μ -CT Análise histomorfométrica	Não se verificou diferença na densidade e altura e volume ósseos e densidade mineral nem diferenças histológicas. Ocorreu diferença significativa na espessura trabecular entre AutoBT e Bio-Oss®	AutoBT pode ser considerado uma alternativa ao osso autógeno ou outros materiais em aumento do seio maxilar
2014	Binderman et al.	Demonstrar um novo procedimento de preparação de dentes extraídos para enxerto ósseo imediato	1 paciente	Dente particulado	Raio-X Análise histológica	4 meses: Raio-X demonstra formação de novo osso, e regeneração completa do alvéolo	Dentina autógena mineralizada particulada aplicada imediatamente após extração deveria ser considerada Gold standart para a preservação alveolar, aumento de seio maxilar e preenchimento de defeitos.
2015	Kim	Avaliar a utilidade clínica de dente autógeno desmineralizado para enxerto imediato (Auto-FDT)	38 pacientes	Auto-FDT	Avaliação clínica Estudo histológico	12 meses após colocação de implante há bom suporte ósseo. Nova formação óssea induzida pelo material de enxerto	A preparação de Auto-FDT no mesmo setting clínico é uma alternativa a enxerto de osso autólogo ou outros materiais para reconstrução imediata de defeitos ósseos
2015	Kim et al.	Avaliar a relevância clínica de Auto-FDT	4 pacientes	Auto-FDT	RX, conebeam CT e histologia	Raio-X demonstram boa cicatrização. Histologia demonstra nova formação óssea com reabsorção do material de enxerto	Auto-FDT preparado em clínica é um bom material para preservação alveolar
2015	Lee et al.	Aumento de seio maxilar e aplicação de implante com enxerto de dentina	1 paciente 51 anos M	Bloco de dentina autógena (ABTB)	Raio-X	4 anos: Osso bem formado à volta do implante	Este caso demonstra a aplicabilidade de ABTB para elevação de seio maxilar

Tabela 15 - Recolha de estudos clínicos sobre a utilização de dentina autógena em regeneração óssea

Data	Autor	Objetivos	Amostra	Produto final	Método de análise	Resultados e follow-up	Conclusões
2015	Kabir et al.	Regeneração de alvéolos de 3ºs molares	1 paciente 27 anos M	DDM	Rx, micro CT e 3D micro CT	3 e 12 meses: Raio-X demonstra preenchimento uniforme do alvéolo. 12 meses: regeneração óssea completa	DDM pode ser efectivo material de enxerto para regeneração óssea
2016	Schwarz et al.	Aumento de crista óssea com blocos de dentina	1 paciente	Raíz dentária	Avaliação clínica Raio-x	6 meses: aumento de 6,5mm de altura óssea Raio-x demonstra densidade óssea homogénea	Esta abordagem deve ser estudada para colocação de implantes
2016	Binderman et al.	Demonstrar a aplicação de dentes recém extraídos como material de enxerto autógeno	53 extrações	Dente desinfetado	Raio-X	4 meses: Raio-X demonstram osso formado e defeitos completamente preenchidos	É possível obter particulado de dentina pronto para enxerto entre 15 a 20 minutos

III DISCUSSÃO

A dentina tem sido estudada como material de enxerto para superar as desvantagens do enxerto com materiais alógenos, xenógenos e aloplásticos, mantendo a capacidade de regenerar osso tal como o osso autógeno. Em aplicações clínicas, a dentina, não apresenta riscos de incompatibilidade, nem de infecções cruzadas. É tão efetiva como outros materiais, promovendo igual ou superior capacidade de osteocondução e osteoindução, assim como excelente capacidade remodeladora óssea inicial (Park et al., 2012).

A dentina carece de um processamento prévio antes de ser utilizada como material de regeneração óssea. Por isso é importante, o protocolo definido por Binderman (2012), padronizado, prático em termos clínicos e de fácil e rápida execução. Continuam no entanto a serem necessárias, comparações com outras técnicas de regeneração com base no conhecimento atual e nos protocolos já existentes (Tabatabaei et al., 2016). Desta forma abrir-se-ia caminho a uma maior integração da utilização da dentina como material de enxerto para regeneração óssea e maior divulgação desta técnica e respetivas vantagens.

Ao contrário do que acontece com os materiais que são comercializados e que se encontram prontos a serem aplicados, o dente requer que lhe sejam retirados, os restos de tecidos envolventes, periodonto, ligamento periodontal e cimento. Eventuais cáries que funcionariam como locais de retenção de material bacteriano e que logicamente comprometeriam a desinfecção do material, assim como eventuais materiais de restauração, que apesar da sua biocompatibilidade intra-oral, não são apropriados para que sejam integrados no osso. Este procedimento de limpeza é o primeiro passo e pode ser facilmente realizado com uma broca de tungsténio.

Do conteúdo proteico presente na dentina conhecem-se as suas capacidades ativadoras da regeneração óssea. O que se pretendeu realçar neste trabalho não foi o atual conhecimento da composição da matriz dentinária, mas que a sua matriz possui elementos proteicos que são já conhecidos do metabolismo ósseo e relacioná-lo com a sua possível utilização clínica ainda pouco divulgada. Tomando em consideração o atual conhecimento que temos do potencial osteocondutor, osteoindutor conferido pelos fatores de crescimento presentes nos dentes e na semelhante composição e

histogénese entre dente e osso, torna-se possível pensar num novo material de enxerto utilizando a componente orgânica e inorgânica dos dentes extraídos para esse efeito ou com esse objetivo. Neste contexto é já uma realidade que este procedimento seja realizado, embora por poucos profissionais. E existe ainda pouca investigação, embora todos os resultados apresentados nos estudos apresentados nas tabelas 10, 11 e 12, tenham permitido verificar que existe significância estatística, assim como bons resultados clínicos, perspetivando assim a relevância deste procedimento.

A forma isométrica da HA que se encontra no tecido ósseo tem um baixo grau de cristalização e o tamanho das partículas encontra-se na escala dos nanómetros, semelhante ao osso. Por outro lado, a hidroxiapatite sintetizada por métodos artificiais e a altas temperaturas para que seja comercializada como biomaterial, tem um elevado grau de cristalização, o que torna o processo de reabsorção completo seja quase impossível pelo tecido ósseo, além de que a sua capacidade de osteocondução é pequena e não pode ser degradada por macrófagos. HA com baixo grau de cristalização é portanto a mais efetiva em termos de osteocondução e é esta que se encontra na dentina (Y. Kim, 2012).

O facto da dentina e o cimento partilharem o mesmo conteúdo proteico não é prejudicial à formação óssea na eventualidade de na preparação do dente para enxerto permanecerem restos de cimento. A remoção de cimento da raiz dentária permanece relacionada com a limpeza de restos biológicos, tais como ligamento periodontal e bactérias, possíveis cáries ou materiais de restauração.

A pesquisa efetuada, revela que existe consenso entre os autores quanto às potencialidades da dentina como material de enxerto para regeneração óssea. Tendo em conta os estudos já efetuados em humanos, acredita-se que em poucos anos a dentina seja utilizada como biomaterial com a mesma naturalidade como hoje acontece com os restantes materiais amplamente comercializados. O que também será resultado de mais provas em como este material é seguro e eficaz. Para isso, serão necessários mais estudos, no entanto a evidência atual demonstra que a dentina corresponde às características de um biomaterial de futuro.

O osso alveolar e a dentina partilham componentes que os tornam semelhantes. E a dentina possui matéria orgânica e inorgânica útil para a formação de osso. Essa potencialidade deve ser aproveitada.

São diversas as técnicas de preparação da dentina apresentadas para que esta possa ser utilizada como biomaterial. No entanto ainda não podemos retirar conclusões de qual a técnica mais eficiente, eventualmente pela necessidade de mais evidência científica. Independentemente da técnica mais eficaz, todas as técnicas têm em comum, seja para dentina mineralizada ou desmineralizada, a necessidade de remover o conteúdo bacteriano e restos de tecidos anexos ao dente, e a maioria dos estudos demonstram que o material dentinário é mais eficaz se for enxertado em particulado. Se utilizado o sistema de trituração de dentina, “Smart Dentin Grinder” (Kometa Bio, Ltd) o procedimento de preparação da dentina após extração do dente para enxerto pode ser realizado em cerca de 15 a 20 minutos num particulado de 300µm a 1200µm. Estes valores referentes ao tamanho das partículas estão de acordo um estudo realizado por, Nam et al. (2016), que verificou por microscopia eletrônica de biopsias feitas em ratos, quais as amostras de osso regenerado que apresentavam maior qualidade e quantidade de osso regenerado em função do tamanho das partículas de dentina. (Binderman et al., 2014; Nam et al., 2016)

A maioria dos estudos comparativos em humanos foram realizados em países asiáticos. Tendo em conta possíveis condicionantes dos estudos, tais como hábitos de vida, culturais, alimentares, sugere-se que estes estudos sejam conduzidos noutras partes do globo. A genética também pode ser uma variável importante que influencie os resultados e até ao momento não se conhecem resultados relativamente a enxerto autógeno de dentina desmineralizada na população não asiática.

Uma vez que o tabaco interfere negativamente nos processos de cicatrização, verificou-se a exclusão de variáveis nos estudos que poderiam interferir nos respetivos resultados. A maioria dos estudos incluem critérios de inclusão e exclusão e pacientes com hábitos parafuncionais ou tabágicos não foram incluídos nos estudos de preparação de dentina desmineralizada (Y. K. Kim, Kim, et al., 2014).

No entanto, pacientes fumadores poderiam ser incluídos em novos estudos, com o objetivo de perceber se influi ou não no processo de regeneração.

A maioria dos estudos previa seguimentos clínicos, aos quais, depois de realizados os tratamentos de reabilitação alguns dos pacientes desistiram, o que se revelou uma das limitações de vários estudos, tendo em conta a importância fulcral da avaliação do crescimento ósseo após a realização dos enxertos.

O número das amostras estudadas é um fator importante. E no futuro devem ser realizados estudos com mais pacientes. Os estudos apresentados realizados em humanos, carecem de uma amostra maior que dê mais relevância aos mesmos. Todos os estudos abrangidos, quer em humanos quer em animais foram submetidos à respetiva comissão de Ética a que correspondia cada situação e foi verificado em todos os estudos não existirem quaisquer conflitos de interesses dos autores.

IV PERSPETIVAS FUTURAS

A dentina desmineralizada demonstrou ser útil também em outras áreas da Medicina Dentária como a Endodontia, para preenchimento de canais. Jiang Y., Sun M. & Wu D. (2003) descrevem que a matriz dentinária desmineralizada (DDM) demonstrou ter capacidades osteoindutoras, osteocondutoras e osteogénicas e além de material de enxerto ósseo, poderá no futuro vir a ganhar interesse na endodontia como material de apexificação e ainda como um material obturador definitivo. Além disso, é recorrente a necessidade de regeneração óssea para reabilitação com implantes, este procedimento requer suficiente volume de osso, altura e largura, para garantir a sua estabilidade e osteointegração (Pilipchuk et al., 2016). E deste modo o enxerto autógeno com dentina poderá ser no futuro bastante mais utilizado.

O próximo passo a considerar é a investigação em humanos, embora já tenham sido realizados com blocos de dentina, foram no entanto enxertos alógenos e apenas para aumento do seio maxilar. Apesar de Binderman referir inúmeros dados sobre a aplicação da sua técnica por centenas de profissionais, nunca refere em que regiões ósseas são realizados os enxertos ou que implantes e número de implantes foram colocados. Seria interessante compreender o que acontece noutras áreas da cavidade oral, nomeadamente, na mandíbula e noutras áreas do maxilar. No entanto, é de relembrar que a regeneração óssea tem utilidade não apenas em termos de restabelecer osso que se perdeu por consequência de doença periodontal, mas também em casos de perda de osso por trauma ou motivos oncológicos, e que o enxerto autógeno de dentina poderá ter indicação clínica e ajudar a solucionar esses casos.

Os estudos de enxerto autógenos de dentina em humanos são ainda pouco frequentes. É comum que existam reservas por parte dos clínicos em adotarem novas técnicas, quer por desconhecimento das mesmas, quer por falta de confiança na evidência científica a que têm acesso. É expectável que dentro de alguns anos e com o surgimento de mais literatura referente a este tema, surja mais curiosidade e mais interesse na comunidade médica e científica, e que isso incite mais investigação. E é portanto um material que pelas suas características e evidente versatilidade ganhará mais credibilidade e mais atenção enquanto material autógeno para regeneração óssea.

Estudos com dentes com intervenções edodonticas e enxertos em pacientes com defeitos ósseos periodontais devem ser considerados em futuros estudos assim como a influencia desta técnica na sobrevivência e sucesso dos implantes tem que ser melhor esclarecida.

As limitações de alguns estudos poderão descredibilizar esta técnica. Entre elas a análise de resultados recorrendo a radiografia panorâmica, poderá parecer um método pouco preciso. A análise histológica é a única garantia da formação óssea e da qualidade do mesmo. E em estudos em humanos por vezes isso não foi realizado ou foi realizado numa amostra muito reduzida.

V CONCLUSÕES

A escolha de um material de enxerto para regeneração óssea deve ter em conta as vantagens e desvantagens dos mesmos. O enxerto de osso autógeno é tido como o padrão de ouro em toda a literatura. No entanto, surgiu recentemente a utilização de dentina para enxerto autógeno.

Existem duas grandes filosofias respeitantes à dentina para enxerto. Os autores que mais publicaram sobre o enxerto autógeno de dentina, Kim e Murata, defendem que esta seja desmineralizada e por outro lado, Binderman defende a preparação da mesma mantendo-a mineralizada. A morbilidade, os elevados custos, a disponibilidade de material em quantidade suficiente e as queixas dos pacientes relativas a dor pós cirúrgica são os principais pontos negativos do enxerto com osso autógeno. Por outro lado, o enxerto autógeno de dentina quer desmineralizado, quer mineralizado, não apresenta quaisquer destas desvantagens. À luz dos resultados apresentados pela literatura, o enxerto de dentina para regeneração óssea é uma boa alternativa ao osso autógeno.

No entanto, apesar de existir evidência científica em relação a esta técnica a nível de regeneração óssea, são ainda necessários mais estudos para verificar os resultados a longo prazo, em doentes com defeitos ósseos periodontais, esclarecer os resultados em doentes fumadores e definir as quantidades mínimas de dentina que levam a regeneração de osso. Fatores também ainda hoje não esclarecidos na literatura, tais como a aplicabilidade do enxerto de dentina noutros contextos como a obturação definitiva de canais e apexificação na endodontia devem ser estudados.

A principal vantagem desta técnica em termos práticos, além da sua efetividade, é a sua simplicidade e portanto poderá ser realizada por clínicos se encontrem habilitados para realizar enxertos ósseos.

Em termos clínicos a técnica que apresenta maior aplicabilidade é a trituração de dentina mineralizada em consultório recorrendo a um protocolo proposto por Binderman (2012). Refutando os anteriores protocolos de preparação de dentina desmineralizada propostos Kim e Murata que implicam técnicas demoradas e pouco exequíveis em consultório. Esta técnica conjuga ainda todos os estudos realizados até ao momento e define resultados com base na utilização de dentina mineralizada, num

particulado entre 300µm e 1200µm. Valores que se enquadram no que é defendido por vários autores.

As limitações desta técnica relacionam-se apenas com a possível não existência de dentes com indicação para extração ou dentes muito destruídos sem quantidade de dentina suficiente para aplicar como enxerto. Futuramente deve ser também estudado qual a quantidade mínima de dentina para regeneração de um alvéolo. Informação que ainda não se encontra na literatura. Esta técnica possibilita que os dentes possam ser utilizados como material de enxerto em cerca de 15 minutos após extração, e a dentina pode ser considerada o novo padrão de ouro para preservação de alvéolo, aumento de seio maxilar e regeneração de defeitos ósseos.

VI BIBLIOGRAFIA

- AL-Namnam, N.M. Shanmuhasuntharam, P., K.O., H., & C.H., S. (2010). Processed Allogenic Dentin as A Scaffold for Bone Healing: An in vivo study. *Australian Journal of Basic Applied Sciences*, 4(12), 5932–5940.
- Almeida, J., & Alves, B. (2007). Efeito da matriz dentinária humana no reparo alveolar de ratos : avaliação histológica e imunohistoquímica 1. *Revista Gaúcha de Odontologia*, 55(2), 133–138.
- Andersson, L., & Ramzi, A. (2009). Studies on dentin grafts to bone defects in rabbit tibia and mandible ; development of an experimental model, (9), 78–83. <http://doi.org/10.1111/j.1600-9657.2008.00703.x>
- Andersson, L., Ramzi, A., & Joseph, B. (2009). Studies on dentin grafts to bone defects in rabbit tibia and mandible; development of an experimental model. *Dental Traumatology*, 25(1), 78–83. <http://doi.org/10.1111/j.1600-9657.2008.00703.x>
- Avila-Ortiz, G., Elangovan, S., Kramer, K., Blanchette, D., & Dawson, D. (2014). Effect of Alveolar Ridge Preservation after Tooth Extraction : A Systematic Review. *Dental Research*, 93(10), 950–958. <http://doi.org/10.1177/0022034514541127>
- Bakhshalian, N., Hooshmand, S., Campbell, S. C., Kim, J.-S., Brummel-Smith, K., & Arjmandi, B. H. (2013). Biocompatibility and microstructural analysis of osteopromotive property of allogenic demineralized dentin matrix. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 28(6), 1655–62. <http://doi.org/10.11607/jomi.2833>
- Bang, G., Nordenram, Å., & Anneroth, G. (1972). Allogenic demineralized dentin implants in jaw defects of Java monkeys. *International Journal of Oral Surgery*, 1(3), 126–136. [http://doi.org/10.1016/S0300-9785\(72\)80003-6](http://doi.org/10.1016/S0300-9785(72)80003-6)
- Binderman, I., Hallel, G., Nardy, C., Yaffe, A., & Sapoznikov, L. (2012). Processing extracted teeth for immediate grafting of autogenous dentin, 8(2), 43–46.
- Binderman, I., Hallel, G., Nardy, C., Yaffe, A., & Sapoznikov, L. (2014). A Novel Procedure to Process Extracted Teeth for Immediate Grafting of Autogenous Dentin. *Interdisciplinary Medicine and Dental Science*, 2(6), 2–6. <http://doi.org/10.4172/jimds.1000154>
- Caplanis, N., Lozada, J., & Kan, J. (2005). Extraction Defect: Assessment,

- Classification and Management. *Journal of the California Dental Association*, 33(11). <http://doi.org/10.5005/jp-journals-10004-1001>
- Chaussain, C., Boukpepsi, T., Khaddam, M., Tjaderhane, L., George, A., & Menashi, S. (2013). Dentin matrix degradation by host matrix metalloproteinases: Inhibition and clinical perspectives toward regeneration. *Frontiers in Physiology*, 4, 1–8. <http://doi.org/10.3389/fphys.2013.00308>
- D'Souza, R., Cavender, A., Dickinson, D., Roberts, A., & Letterio, L. (1998). TGF- B 31 is essential for the homeostasis of the dentin- pulp complex. *European Journal of Oral Sciences*, 11, 185–191. <http://doi.org/10.1111/j.1600-0722.1998.tb02174.x>
- Gruskin, E., Doll, B. A., Futrell, F. W., Schmitz, J. P., & Hollinger, J. O. (2012). Demineralized bone matrix in bone repair : History and use. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 64(12), 1063–1077. <http://doi.org/10.1016/j.addr.2012.06.008>
- Hansson, S., & Halldin, A. (2012). Alveolar ridge resorption after tooth extraction : A consequence of a fundamental principle of bone physiology. *Journal of Dental Biomechanics*, 3. <http://doi.org/10.1177/1758736012456543>
- Hee-yung, C., Taek-ka, K., Kwang-won, L., Young-kyun, K., Hyo-jung, L., Taek-ka, K., & Kwang-won, L. (2014). Feasibility Analysis of Autogenous Tooth-based Bone Graft Material after Guided Bone Regeneration Technique. *Journal of Case Reports and Studies*, 1(6), 1–7. <http://doi.org/10.15744/2348-9820.1.604>
- Henkel, J., Woodruff, M. A., Epari, D. R., Steck, R., Glatt, V., Dickinson, I. C., Hutmacher, D. W. (2013). Bone Regeneration Based on Tissue Engineering Conceptions – A 21st Century Perspective. *Nature Publishing Group*, 1(3), 216–248. <http://doi.org/10.4248/BR201303002>
- Holt, D. J., & Grainger, D. W. (2012). Demineralized bone matrix as a vehicle for delivering endogenous and exogenous therapeutics in bone repair. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 64(12), 1123–1128. <http://doi.org/10.1016/j.addr.2012.04.002>
- Hong, C., Lee, J.-Y., Choi, J., & Joo, J.-Y. (2015). Prediction of the alveolar bone level after the extraction of maxillary anterior teeth with severe preiodontitis. *Journal of Periodontal and Implant Science*, 45, 216–222. <http://doi.org/http://dx.doi.org/10.5051/jpis.2015.45.6.216>
- Jun, S.-H., Ahn, J.-S., Lee, J.-I., Ahn, K.-J., Yun, P.-Y., & Kim, Y.-K. (2014). A prospective study on the effectiveness of newly developed autogenous tooth

- bone graft material for sinus bone graft procedure. *The Journal of Advanced Prosthodontics*, 6(6), 528–538. <http://doi.org/10.4047/jap.2014.6.6.528>
- Kabir, M. A., Murata, M., Kusano, K., Akazawa, T., & Shibata, T. (2015). Autogenous Demineralized Dentin Graft for Third Molar Socket Regeneration - A Case Report. *Dentistry*, 5(11), 11–14. <http://doi.org/10.4172/2161-1122.1000343>
- Kalfas, I. (2001). Principles of bone healing. *Neurosurgery Focus*, 10(4), 1–4.
- Kim, E.-S. (2015). Autogenous fresh demineralized tooth graft prepared at chairside for dental implant. *Maxillofacial Plastic and Reconstructive Surgery*, 37(1), 4–9. <http://doi.org/10.1186/s40902-015-0009-1>
- Kim, E., Lee, I., Kang, J., & Lee, E. (2015). Various autogenous fresh demineralized tooth forms for alveolar socket preservation in anterior tooth extraction sites : a series of 4 cases. *Maxillofacial Plastic and Reconstructive Surgery*, 37(1), 1–7. <http://doi.org/10.1186/s40902-015-0026-0>
- Kim, E. S., Kang, J. Y., Kim, J. J., Kim, K. W., & Lee, E. Y. (2016). Space maintenance in autogenous fresh demineralized tooth blocks with platelet - rich plasma for maxillary sinus bone formation : a prospective study. *Springer Plus*, 5, 1–9. <http://doi.org/10.1186/s40064-016-1886-1>
- Kim, Y. (2012). Bone graft material using teeth. *Journal Korean Association Oral Maxillofacial Surgery*, 38, 134–138.
- Kim, Y.-K., Lee, J., Um, I.-W., Kim, K.-W., Murata, M., Akazawa, T., & Mitsugi, M. (2013). Tooth-derived bone graft material. *Journal of the Korean Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*, 39(3), 103–111. <http://doi.org/10.5125/jkaoms.2013.39.3.103>
- Kim, Y. K., Kim, S. G., Yun, P. Y., Yeo, I. S., Jin, S. C., Oh, J. S., ... Kim, G. W. (2014). Autogenous teeth used for bone grafting: A comparison with traditional grafting materials. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*, 117(1), 39–45. <http://doi.org/10.1016/j.oooo.2012.04.018>
- Kim, Y. K., Lee, J., Um, I.-W., Kim, K.-W., Murata, M., Akazawa, T., & Mitsugi, M. (2013). Tooth-derived bone graft material. *Journal of the Korean Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*, 39(3), 103–111. <http://doi.org/10.5125/jkaoms.2013.39.3.103>
- Kim, Y. K., Lee, J., Yun, J. Y., Yun, P. Y., & Um, I. W. (2014). Comparison of autogenous tooth bone graft and synthetic bone graft materials used for bone

- resorption around implants after crestal approach sinus lifting: A retrospective study. *Journal of Periodontal and Implant Science*, 44(5), 216–221. <http://doi.org/10.5051/jpis.2014.44.5.216>
- Kim, Y., Kim, S., & Byeon, J. (2010). Development of a novel bone grafting material using autogenous. *YMOE*, 109(4), 496–503. <http://doi.org/10.1016/j.tripleo.2009.10.017>
- Kim, Y., Kim, S., Oh, J., Jin, S., Son, J., Kim, S., & Lim, S. (2011). Analysis of the Inorganic Component of Autogenous Tooth Bone Graft Material. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 11(8), 7442–7445. <http://doi.org/10.1166/jnn.2011.4857>
- Kini, U., & Nandeesh, B. N. (2012). Physiology of Bone Formation, Remodeling, and Metabolism. In *Radionuclide and Hybrid Bone Imaging* (pp. 29–57). Springer International Publishing. <http://doi.org/10.1007/978-3-642-02400-9>
- Koga, T., Minamizato, T., Kawai, Y., Miura, K. I., Takashi, I., Nakatani, Y. Asahina, I. (2016). Bone regeneration using dentin matrix depends on the degree of demineralization and particle size. *PLoS ONE*, 11(1), 1–12. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0147235>
- Koussoulakou, D. S., Margaritis, L. H., & Koussoulakos, S. L. (2009). A curriculum vitae of teeth: Evolution, generation, regeneration. *International Journal of Biological Sciences*, 5(3), 226–243. <http://doi.org/10.7150/ijbs.5.226>
- Kumar, P., Vinitha, B., & Fathima, G. (2013). Bone grafts in dentistry, 5(June), 125–128. <http://doi.org/10.4103/0975-7406.113312>
- Lee, J.-Y., Kim, Y. K., Yi, Y.-J., & Choi, J.-H. (2013). Clinical evaluation of ridge augmentation using autogenous tooth bone graft material: case series study. *Journal Korean Association Oral Maxillofacial Surgery*, 39(4), 156–160. <http://doi.org/10.5125/jkaoms.2013.39.4.156>
- Lee, J. Y., Lee, J., & Kim, Y. K. (2013). Comparative analysis of guided bone regeneration using autogenous tooth bone graft material with and without resorbable membrane. *Journal of Dental Sciences*, 8(3), 281–286. <http://doi.org/10.1016/j.jds.2013.03.001>
- Lee, K., Kim, Y., Cho, W., Um, I., Murata, M., & Mitsugi, M. (2015). Autogenous tooth bone graft block for sinus augmentation with simultaneous implant installation: a technical note. *Journal Korean Association Oral Maxillofacial Surgery*, 41, 284–289.

- Marques, L., Júnior, E., Lotif, M., Neto, E., Silva, F., & Martiniano, C. (2015). Application of BMP-2 for bone graft in Dentistry. *Revista Sul-Brasileira de Odontologia*, 12(1), 88–93.
- Martin-De Las Heras, S., Valenzuela, A., & Overall, C. . (2000). The matrix metalloproteinase gelatinase A in human dentine. *Archives of Oral Biology*, 45(9), 757–765. [http://doi.org/10.1016/S0003-9969\(00\)00052-2](http://doi.org/10.1016/S0003-9969(00)00052-2)
- Mezzomo, L., Shinkai, R., Mardas, N., & Donos, N. (2011). Alveolar ridge preservation after dental extraction and before implant placement : A literature review Preservação do rebordo alveolar após a extração dentária e antes da colocação de implante : revisão da literatura. *Revista Odonto Ciencia*, 26(1), 77–83.
- Michael, B. (1997). Bone morphogenetic proteins : background and implications for oral reconstruction. *Journal of Clinical Periodontology*, 24, 355–365.
- Moharamzadeh, K., Freeman, C., & Blackwood, K. (2008). Processed bovine dentine as a bone substitute. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 46(2), 110–113. <http://doi.org/10.1016/j.bjoms.2007.07.209>
- Monje, A., Pikos, M. A., Chan, H. L., Suarez, F., Gargallo-Albiol, J., Hernández-Alfaro, F., ... Wang, H. L. (2014). On the feasibility of utilizing allogeneic bone blocks for atrophic maxillary augmentation. *BioMed Research International*, 2014. <http://doi.org/10.1155/2014/814578>
- Morjaria, K. R., Wilson, R., & Palmer, R. M. (2012). Bone Healing after Tooth Extraction with or without an Intervention : A Systematic Review of Randomized Controlled Trials, 1–20. <http://doi.org/10.1111/j.1708-8208.2012.00450.x>
- Murata, M., Toshiyuki, A., Mitsugi, M., Um, I.-W., Kim, K.-W., & Kim, Y.-K. (2010). Human Dentin as Novel Biomaterial for Bone Regeneration.
- Nam, J., Kim, M., & Han, S. (2016). Cranial bone regeneration according to different particle sizes and densities of demineralized dentin matrix in the rabbit model. *Maxillofacial Plastic and Reconstructive Surgery*, 38, 1–9. <http://doi.org/10.1186/s40902-016-0073-1>
- Oryan, A., Alidadi, S., Moshiri, A., & Maffulli, N. (2014). Bone regenerative medicine : classic options , novel strategies , and future directions. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*, 9(1). <http://doi.org/10.1186/1749-799X-9-18>

- Ou, M., Zhao, Y., Zhang, F., & Huang, X. (2015). Bmp2 and Bmp4 accelerate alveolar bone development. *Connective Tissue Research*, 56(3), 204–211. <http://doi.org/10.3109/03008207.2014.996701>
- Pan, H., Li, X., Wang, J., Zhang, K., Yang, H., Li, Z., Liu, H. (2015). LIM Mineralization Protein-1 Enhances Bone Morphogenetic Protein-2-Mediated Osteogenesis Through Activation of ERK1/2 MAPK Pathway and Upregulation of Runx2 Transactivity. *Journal of Bone and Mineral Research*, 30(8), 1523–1535. <http://doi.org/10.1002/jbmr.2481>
- Park, S., Um, I., Kim, Y., Kim, K., & Kim, K. (2012). Clinical application of auto-tooth bone graft material. *Journal Korean Association Oral Maxillofacial Surgery*, 38, 2–8.
- Pilipchuk, S., Plonka, A., Monje, A., Taut, A., Lanisdro, A., Kang, B., & Giannobile, W. (2016). Tissue Engineering for Bone Regeneration and Osseointegration in the Oral Cavity, 31(4), 317–338. <http://doi.org/10.1016/j.dental.2015.01.006>
- Ravindran, S., & George, A. (2016). Dentin Matrix Proteins in Bone Tissue Engineering. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 881, 129–142. <http://doi.org/10.1007/978-3-319-22345-2>
- Roschger, P., Rumpler, M., Wu, T., Zwettler, E., Sturmlechner, I., Altmann, P., ... Klaushofer, K. (2013). Osteoclasts on Bone and Dentin In Vitro : Mechanism of Trail Formation and Comparison of Resorption Behavior. *Calcified Tissue International*, 93, 526–539. <http://doi.org/10.1007/s00223-013-9786-7>
- Schropp, L., Wenzel, A., Kostopoulos, L., & Karring, T. (2003). Bone healing and soft tissue contour changes following single-tooth extraction : A clinical and radiographic 12-month prospective ... *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry*, (February).
- Smith, A. J., & Leaver, A. G. (1979). Non-collagenous components of the organic matrix of rabbit incisor dentine. *Archives of Oral Biology*, 24(6), 449–454. [http://doi.org/10.1016/0003-9969\(79\)90007-4](http://doi.org/10.1016/0003-9969(79)90007-4)
- Smith, A. J., Scheven, B. A., Takahashi, Y., Ferracane, J. L., Shelton, R. M., & Cooper, P. R. (2012). Dentine as a bioactive extracellular matrix. *Archives of Oral Biology*, 57(2), 109–121. <http://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2011.07.008>
- Stok, J. Van Der, Lieshout, E. M. M. Van, El-massoudi, Y., Kralingen, G. H. Van, & Patka, P. (2011). Bone substitutes in the Netherlands – A systematic literature

- review. *Acta Biomaterialia*, 7(2), 739–750.
<http://doi.org/10.1016/j.actbio.2010.07.035>
- Sun, Y., Jiang, Y., Liu, Q., Gao, T., Feng, J. Q., Souza, R. N. D., Liu, X. (2013). Biomimetic Engineering of Nanofibrous Gelatin Scaffolds with Noncollagenous Proteins for Enhanced Bone Regeneration. *Tissue Engineering Part A*, 19, 1754–1763. <http://doi.org/10.1089/ten.tea.2012.0567>
- Tabatabaei, F. S., Tatari, S., Samadi, R., & Moharamzadeh, K. (2016). Different methods of dentin processing for application in bone tissue engineering: A systematic review. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, 104(10), 2616–2627. <http://doi.org/10.1002/jbm.a.35790>
- Tan, W. L., Wong, T. L. T., Wong, M. C. M., & Lang, N. P. (2012). A systematic review of post-extraction alveolar hard and soft tissue dimensional changes in humans. *Clinical Oral Implants Research*, 23 (5), 1–21. <http://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2011.02375.x>
- Tazaki, J., Murata, M., Yuasa, T., Akazawa, T., Ito, K., Hino, J., Shibata, T. (2010). Autograft of human tooth and demineralized dentin matrices for bone augmentation. *Journal of the Ceramic Society of Japan*, 118(6), 442–445.
- Tomson, P. L., Grover, L. M., Lumley, P. J., Sloan, A. J., Smith, A. J., & Cooper, P. R. (2007). Dissolution of bio-active dentine matrix components by mineral trioxide aggregate. *Journal of Dentistry*, 35(8), 636–642. <http://doi.org/10.1016/j.jdent.2007.04.008>
- Van Der Weijden, F., Dell’Acqua, F., & Slot, D. E. (2009). Alveolar bone dimensional changes of post-extraction sockets in humans: A systematic review. *Journal of Clinical Periodontology*, 36(12), 1048–1058. <http://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2009.01482.x>